



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JULIANE NADAL DIAS SWIECH

AVALIAÇÃO QUÍMICA E BIOLÓGICA
DE *Philodendron meridionale* BUTURI & SAKUR (ARACEAE)

CURITIBA

2018

JULIANE NADAL DIAS SWIECH

AVALIAÇÃO QUÍMICA E BIOLÓGICA
DE *Philodendron meridionale* Buturi & Sakur (ARACEAE)

Tese apresentada como requisito parcial à
obtenção do grau de Doutora em Ciências
Farmacêuticas, no curso de Pós-graduação
em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências
da Saúde, da Universidade Federal do Paraná

.

Orientador: Prof. Dr. Obdulio Gomes Miguel
Coorientador: Prof. Dr. Paulo Vitor Farago

CURITIBA
2018

Swiech, Juliane Nadal Dias

Avaliação química e biológica de *Philodendron meridionale* Buturi & Sakur (Araceae) / Juliane Nadal Dias Swiech – Curitiba, 2018.

171 f. : il. (algumas color.); 30 cm

Orientador: Professor Dr. Obdulio Gomes Miguel

Coorientador: Professor Dr. Paulo Vitor Farago

Tese (doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

Inclui referência

1. Araceae. 2. *Philodendron meridionale*. 3. Terpenos. 4. Polifenóis. I. Miguel, Obdulio Gomes. II. Farago, Paulo Vitor. III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDD 584.64

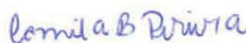
TERMO DE APROVAÇÃO


Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **JULIANE NADAL DIAS SWIECH** intitulada: **AVALIAÇÃO QUÍMICA E BIOLÓGICA DE *Philodendron meridionale* BUTURI & SAKUR (ARACEAE)**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua aprovação no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 27 de Julho de 2018.


OBDULIO GOMES MIGUEL
Presidente da Banca Examinadora


CAMILA BUGNOTTO PEREIRA
Avaliador Externo


CRISTIANE DA SILVA PAULA DE OLIVEIRA
Avaliador Externo


ROSI ZANONI DA SILVA
Avaliador Externo


MILENA KALEGARI
Avaliador Externo

*Aos meus pais, Orlando e Linda,
por serem fonte e alicerce
para o meu desenvolvimento.*

*Ao Marcelo, meu esposo,
grande incentivador do meu sonho,
e que com amor, apoio e companheirismo
sempre esteve presente
compreendendo as minhas ausências.*

*Aos meus filhos Guilherme e Eduardo,
que com amor e carinho,
tiveram respeito e paciência
ao dividirem a atenção da mãe
com os livros e laboratórios.
Vocês são a razão pela qual este trabalho acontece.*

É por amor que dedico este trabalho a vocês.

AGRADECIMENTOS

À Deus por todas as bênçãos derramadas na minha vida, pela saúde e proteção durante todo o período do doutorado, principalmente durante as inúmeras viagens à Curitiba.

Aos meus pais pelo incentivo constante ao meu desenvolvimento pessoal e profissional.

Ao meu esposo e filhos por estarem presentes em minha vida, sendo o motivo e a inspiração para a minha conquista diária.

À minha família que sempre me apoiou e credibilizou os estudos da irmã, neta, nora, cunhada e tia. Enfim, agradeço à toda família.

À Universidade Federal do Paraná e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, pela oportunidade.

À Universidade Estadual de Ponta Grossa e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, por ceder o espaço para a realização de experimentos.

Ao meu orientador Prof Dr Obdulio Gomes Miguel, por ter acreditado no meu trabalho antes mesmo de me conhecer, e por todos os ensinamentos e apoio repassados nesses quatro anos.

Ao meu co-orientador Prof Dr Paulo Vitor Farago, por ter me amparado em Ponta Grossa, abrindo as portas do laboratório para a realização de parte da pesquisa.

À Prof Dra Rosi Zanoni da Silva, pelo incentivo, apoio, amizade e colaboração, e por ter sido o ponto de partida para esta conquista.

À Prof Dra Marilis Dallarmi Miguel, pelas dicas e orientações.

Aos Profs Drs Jane Budel Manfron, Carla Cristine Kanufre, Luís Antônio Esmerino, Adalci Leite Torres, Ivana de Freitas Bárbola, Anderson Barison e Egon Schnitzler, pela participação nas análises e determinações dos resultados apresentados nesse trabalho.

Aos demais professores da UFPR e UEPG que participaram com sugestões e incentivo a esse trabalho.

À especialista Dra. Mônica Cássia Sakuragui, pela identificação do espécime vegetal.

Ao secretário Jean Godoi, por resolver todas as questões burocráticas e por estar sempre pronto ao atendimento.

Às amigas, Daniela Gaspar do Folquitto, Vanessa Barbosa Bobek e Thais Latansio de Oliveira, pela prontidão em sempre ajudar, pelo incentivo e colaboração, além da companhia nas inúmeras viagens à Curitiba.

Às técnicas dos laboratórios de farmacognosia e farmacotécnica da Universidade Estadual de Ponta Grossa, Luciane Mendes Monteiro e Elizabete Munhoz, agradeço pela ajuda diária.

Aos colegas de doutorado Francis J.Z. Merino, Amanda M. Urban, Amanda Lyra, Camila B. Oliveira, Camila Freitas, Vinícius B. Oliveira, por terem colaborado na realização de experimentos e análises.

Ao irmão Fernando Nadal Dias, Izabel Fernanda Teixeira, pai, mãe, e filho Guilherme pela ajuda na coleta de pulgas.

Aos professores e funcionários dos Laboratórios: Laboratório de Multiusuários (C-LabMu UEPG), Laboratório de Produção de Medicamentos (LAPmed UEPG), Central Analítica UFPR, Central Analítica USP, Laboratório de Histologia da UEPG, Laboratório de Parasitologia UEPG, Laboratório de Entomologia Agrícola UEPG, Laboratório de Fisiologia UEPG, Laboratório de Engenharia de Alimentos UEPG e Departamento de Química da UFPR, pela realização das análises.

Aos alunos de TCC Camila Dias e Yan Martins Angélico, pelo trabalho realizado.

À CAPES pelo suporte financeiro.

À todas as pessoas que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho.

RESUMO

Philodendron meridionale Buturi & Sakur é nativa e endêmica do Brasil, não ameaçada de extinção, encontrada nos estados do Paraná e Santa Catarina. É uma planta hemiepífita onde até o presente momento, não há relato de investigação realizada com esta espécie. O presente trabalho objetivou estudar a anatomia de caules e folhas, a composição química e atividades biológicas de *P. meridionale*. Foram determinadas as características do vegetal, como teor de umidade e cinzas e a degradação térmica de seus componentes que ocorreu em três etapas em atmosfera de nitrogênio e em quatro etapas em atmosfera de ar sintético. O material vegetal foi analisado por métodos habituais de microscopia óptica e de microscopia eletrônica de varredura, onde foram observadas folhas hipostomásticas com - estômatos braquiparatetracíticos, nervura central com forma plano-convéxica, pecíolo e caule cilíndricos, e a presença de drusas e ráfides nos órgãos vegetativos, que em espectroscopia de dispersão atômica foram caracterizados como cristais de oxalato de cálcio. Para a extração dos óleos essenciais de folhas e caules de *P. meridionale* foi utilizada a destilação por arraste de vapor e foram analisados por CG-MS apresentando diterpenos e sesquiterpenos em sua constituição, o que se sugere tratar de óleo-resina. O diterpeno Ent-kaur-16-ene foi encontrado como componente majoritário nos óleos essenciais. Os extratos cetônicos e etanólicos de folhas e de caules foram obtidos por extração em aparelho de Soxhlet modificado e particionados em solventes com polaridade crescente, obtendo-se as frações hexano, diclorometano, acetato de etila e residual. Em análise por reações específicas e CCD foram identificados saponinas, esteroides e terpenos, flavonoides, taninos, cumarinas e antraquinonas. A fração hexano do extrato cetônico da folha foi purificada por técnicas cromatográficas e analisadas por RMN, IV e CG-MS, onde foram identificadas vinte e nove substâncias, entre elas terpenos, ácidos graxos e polifenóis. Também foram realizados ensaios biológicos e químicos com os extratos, tais como: atividade larvicida contra *Plutella xylostella* com índice de mortalidade acima de 78% em 48 horas de tratamento; atividade alelopática promovendo alterações na germinabilidade de sementes, em processos enzimáticos e na morfologia de radículas de *Lactuca sativa*; atividade hemolítica promovendo em torno de 50% de hemólise; atividade antioxidante com destaque para a fração residual do extrato cetônico do caule, e da fração acetato de etila do extrato etanólico do caule, com IC_{50} em $mg.mL^{-1}$, equivalentes a $0,005 \pm 0,09$ e $0,057 \pm 0,05$ respectivamente, sendo comparáveis ao controle positivo; atividade citotóxica frente à células Jurkat, Hela, Calu e HRT, com maior efeito para o extrato cetônico do caule na concentração $200 \mu g.mL^{-1}$ promovendo efeito antiproliferativo de 32%, o qual foi determinado como apoptótico através de citometria de fluxo; e atividade antimicrobiana a qual não apresentou resultado satisfatório. Com os óleos essenciais de folhas e caules foram testados os ensaios contra *Ctenocephalides felis* com um percentual de inabilidade de 100% em uma hora de fumegação, e atividade citotóxica frente às células Jurkat promovendo a viabilidade celular. Por sua composição química e pelos testes biológicos realizados, *P. meridionale* apresenta ação como bio-pesticida com potencial ação na saúde e agricultura.

Palavras chaves: *Philodendron meridionale*. Terpenos. Polifenóis. Morfoanatomia. Atividades biológicas.

ABSTRAT

Philodendron meridionale Buturi & Sakur is native and endemic in Brazil and is found in the States of Paraná and Santa Catarina. It is a hemiepiphyte plant and up to now there is no report of investigations carried out with this species. This study aimed at investigating the anatomy of trunk and leaves, the chemical composition and biological activities of *P. meridionale*. This vegetable characteristics such as moist content and ashes as well as the thermal degradation of its components were determined. The latter was carried out in three phases in nitrogen atmosphere and in four phases in synthetic air atmosphere. The vegetable material was analyzed employing current methods of optical microscopy and scanning electron microscopy, which allowed the observation of hypostomatic leaves with brachyparastomatocytic stomata, central nervure with a plane-convex shape, cylindrical petiole and stem and the presence of druses and raphides in the vegetative organs, which in the atomic dispersion spectroscopy were characterized as calcium oxalate crystals. Steam distillation was employed to extract the oil from the *P. meridionale* leaves and stem, and the oils were analyzed by GC-MS presenting diterpenes and sesquiterpenes in their constitution, which suggests that this is a resin oil. The Ent-kaur-16-ene diterpene was found as the major component of the oil. Acetone and ethanol extracts from leaves and stem were obtained via extraction in a modified Soxhlet apparatus and partitioned into solvents with growing polarity, obtaining the fractions hexane, dichloromethane, ethyl acetate and residual. In specific reactions and CCD analysis, saponins, steroids and terpenes, flavonoids, tannin, coumarine and anthraquinones were identified. The hexane fraction of the leaf acetone extract was purified using chromatographic techniques and NMR, IR and GC-MS analyses. Twenty-nine substances were identified, including terpenes, fatty acids and polyphenols. The extracts were also submitted to biological and chemical tests such as: larvicidal activity against *Plutella xylostella* resulting in a mortality rate over 78% in 48 hours of treatment; allelopathic activity promoting alterations in the seed germination, in enzymatic processes and in the root morphology of *Lactuca sativa*; haemophilic activity, promoting around 50% hemolysis; antioxidant activity with emphasis on the residual fraction of the acetone extract from the stem and the ethyl acetate fraction of the stem ethanol extract, with IC_{50} in $mg.mL^{-1}$, equivalent to $0,005 \pm 0,09$ and $0,057 \pm 0,05$ respectively, which are comparable to the positive control; cytotoxic activity before the Jurkat, Hela, Calu and HRT cells, with greater effect of the stem acetone extract in the concentration $200 \mu g.mL^{-1}$ promoting a 32% antiproliferative effect, which was determined as apoptotic through flow cytometry; and antimicrobial activity, which did not present a satisfactory result. Tests against *Ctenocephalides felis* were carried out with the oils from leaves and stem. After 1-hour fumigation, 100% inactivation was observed and cytotoxic activity in relation to the Jurkat cells promoting cell viability. Considering its chemical composition and the results of the biological tests carried out, *P. meridionale* was seen to act as a bio-pesticide with potential applications in health and agriculture.

Keywords: *Philodendron meridionale*. Terpenes. Polyphenols. Morphoanatomy. Biological activity.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1:	PLANTAS DA FAMÍLIA ARACEAE	20
FIGURA 2:	BIOSSÍNTESE GERAL DA FORMAÇÃO DE TERPENOIDES	23
FIGURA 3:	DISTRIBUIÇÃO DE ALGUMAS ESPÉCIES DO GÊNERO <i>Philodendron</i> NO ESTADO DO PARANÁ	32
FIGURA 4:	<i>Philodendron meridionale</i> EM SEU <i>habitat</i>	34
FIGURA 5:	OBTENÇÃO DO EXTRATO CETÔNICO BRUTO EM APARELHO DE SOXHLET MODIFICADO	41
FIGURA 6:	REAÇÃO DE REDUÇÃO DO DPPH [•] E ASPECTO NA MICROPLACA	48
FIGURA 7:	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FUMEGANTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Philodendron meridionale</i>	61
FIGURA 8:	ESQUEMA DA CRIAÇÃO DE <i>Plutella xylostella</i>	63
FIGURA 9:	ASPECTO ANATÔMICO E MORFOLÓGICO DE FOLHAS DE <i>Philodendron meridionale</i>	71
FIGURA 10:	FOLHA DE <i>Philodendron meridionale</i> EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	73
FIGURA 11:	<i>Philodendron meridionale</i> , ANATOMIA DA FOLHA	74
FIGURA 12:	<i>Philodendron meridionale</i> , ANATOMIA DA FOLHA – CANAIS SECRETORES	75
FIGURA 13:	<i>Philodendron meridionale</i> , ANATOMIA DO PECÍOLO	76
FIGURA 14:	PECÍOLO DE <i>Philodendron meridionale</i> EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	77
FIGURA 15:	ESPECTROSCOPIA DE RAIOS X DE ENERGIA DISPERSIVA (EDS) DE RÁFIDES DE <i>Philodendron</i> <i>meridionale</i>	78
FIGURA 16:	ESPECTROSCOPIA DE RAIOS X DE ENERGIA DISPERSIVA (EDS) DE DRUSAS DE <i>Philodendron</i> <i>meridionale</i>	79
FIGURA 17:	<i>Philodendron meridionale</i> - ORGANIZAÇÃO MOSTRANDO CÓRTEX ESTRATIFICADO CORADO COM SUDAM III	80
FIGURA 18:	<i>Philodendron meridionale</i> , ANATOMIA DO CAULE	81

FIGURA 19:	ASPECTO DO ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS DE <i>Philodendron meridionale</i> EM PROCESSO DE HIDRODESTILAÇÃO EM APARELHO CLEVANGER	82
FIGURA 20:	ESTRUTURA QUÍMICA DOS COMPONENTES MAJORITÁRIOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS DE <i>Philodendron meridionale</i>	86
FIGURA 21:	ESTRUTURA QUÍMICA DOS COMPONENTES MAJORITÁRIOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE CAULES DE <i>Philodendron meridionale</i>	87
FIGURA 22:	PERFIL CROMATOGRÁFICO POR CLAE PARA OS EXTRATOS BRUTOS (ECF, EEF, ECC, EEC) DE <i>Philodendron meridionale</i>	91
FIGURA 23:	ESTRUTURA QUÍMICA DO p-MENTANE	93
FIGURA 24:	ESPECTRO DE RMN ^1H REGISTRADO PARA O COMPOSTO 1	94
FIGURA 25:	ESPECTRO DE RMN ^{13}C REGISTRADO PARA O COMPOSTO 1	94
FIGURA 26:	ESPECTRO DE IV REGISTRADO PARA O COMPOSTO 1 .	95
FIGURA 27:	ESPECTRO DE MASSAS DO COMPOSTO 1	96
FIGURA 28:	ESPECTROS DE MASSAS DOS COMPOSTOS 2, 3, 4 E 5 .	97
FIGURA 29:	ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS NOMEADAS COMO 2, 3, 4 E 5, IDENTIFICADAS NA MISTURA H-2 DA FRAÇÃO (FrH-CF)	97
FIGURA 30:	ESPECTROS DE MASSAS DOS COMPOSTOS 6, 7, 8, 9, 10 E 11	98
FIGURA 31:	ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS NOMEADAS COMO 6, 7, 8, 9, 10 E 11, IDENTIFICADAS NA MISTURA H-3 DA FRAÇÃO (FrH-CF)	99
FIGURA 32:	ESPECTROS DE MASSAS DOS COMPOSTOS 12, 13 E 14	100
FIGURA 33:	ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS NOMEADAS COMO 12, 13 E 14 IDENTIFICADAS NA MISTURA H-4 DA FRAÇÃO (FrH-CF)	100

FIGURA 34:	ESPECTROS DE MASSAS DOS COMPOSTOS 15, 16, 17 E 18	101
FIGURA 35:	ESPECTROS DE MASSAS DOS COMPOSTOS 19, 20 E 21.	102
FIGURA 36:	ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS NOMEADAS COMO 15, 16, 17, 18, 19, 20 E 21, IDENTIFICADAS NA MISTURA H-5 DA FRAÇÃO (FrH-CF)	102
FIGURA 37:	ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS NOMEADAS COMO 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28 E 29, IDENTIFICADAS NA MISTURA H-6 DA FRAÇÃO (FrH-CF)	103
FIGURA 38:	ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS NOMEADAS COMO 22, 23, 24, 25 E 26, IDENTIFICADAS NA MISTURA H-6 DA FRAÇÃO (FrH-CF)	104
FIGURA 39:	ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS NOMEADAS COMO 27, 28 E 29, IDENTIFICADAS NA MISTURA H-6 DA FRAÇÃO (FrH-CF)	105
FIGURA 40:	FORMAÇÃO DE ENT-KAURENE A PARTIR DE GERANILGERANIL PIROFOSFATO	106
FIGURA 41:	MICROSCOPIA ÓPTICA DE FLUORESCÊNCIA DE CÉLULAS CALU-3 POR AÇÃO DO EXTRATO BRUTO ECC DE <i>Philodendron meridionale</i>	124
FIGURA 42:	ALTERAÇÕES NO ASPECTO MORFOLÓGICO DE RADÍCULAS DE <i>Lactuca Sativa</i> , SOB AÇÃO DOS EXTRATOS DE <i>Philodendron meridionale</i>	128
FIGURA 43:	<i>Ctenocephalides felis</i>	136
FIGURA 44:	REDUÇÃO DA ALIMENTAÇÃO DE <i>Plutella xylostella</i> POR AÇÃO DO EXTRATO EEC DE <i>Philodendron meridionale</i>	139

LISTA DE TABELAS

TABELA 1:	COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS OBTIDOS DE PLANTAS DO GÊNERO <i>Philodendron</i> - ARACEAE.	24
TABELA 2:	COMPONENTES QUÍMICOS OBTIDOS A PARTIR DE EXTRATOS DE PLANTAS DO GÊNERO <i>Philodendron</i> - ARACEAE.....	27
TABELA 3:	AÇÕES FARMACOLÓGICAS COMPROVADAS DE SUBSTÂNCIAS ISOLADAS, EXTRATOS OU ÓLEOS ESSENCIAIS OBTIDOS DE PLANTAS DO GÊNERO <i>Philodendron</i> - ARACEAE.....	30
TABELA 4:	CONSTITUIÇÃO DA FASE MÓVEL, DO REVELADOR E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS PARA CCD.....	43
TABELA 5:	TEOR DE UMIDADE E DE CINZAS TOTAIS DE <i>Philodendron meridionale</i>	65
TABELA 6:	PERDA DE MASSA PERCENTUAL DETERMINADA ATRAVÉS DO MÉTODO TERMOGRAVIMÉTRICO PARA FOLHAS E CAULES DE <i>Philodendron meridionale</i>	67
TABELA 7:	CLASSIFICAÇÃO QUÍMICA E PERCENTUAIS DE TERPENOS ENCONTRADOS NO ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS E DE CAULES DE <i>Philodendron meridionale</i>	83
TABELA 8:	COMPOSIÇÃO QUÍMICA (%) DO ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS E DE CAULES DE <i>Philodendron meridionale</i>	84
TABELA 9:	MASSA E RENDIMENTO DOS EXTRATOS BRUTOS DE <i>Philodendron meridionale</i>	88
TABELA 10:	MASSA E RENDIMENTO DAS FRAÇÕES OBTIDAS EM RELAÇÃO AOS EXTRATOS BRUTOS DE <i>Philodendron meridionale</i>	88
TABELA 11:	METABÓLITOS SECUNDÁRIOS IDENTIFICADOS EM FOLHAS E CAULES DE <i>Philodendron meridionale</i> , EM ANÁLISE POR CCD.	89

TABELA 12:	CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E DE FLAVONOIDES EM EXTRATOS BRUTOS DE <i>Philodendron meridionale</i>	92
TABELA 13:	DADOS DE RMN ¹ H E ¹³ C PARA O COMPOSTO 1 E PARA O p-MENTANE	95
TABELA 14:	RESULTADOS DO ENSAIO DO EXTRATO BRUTO DE <i>Philodendron meridionale</i> PELA REDUÇÃO DO COMPLEXO FOSFOMOLIBDÊNIO	110
TABELA 15:	VALORES DE IC ₅₀ PARA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE FRENTE AO DPPH*, PARA OS PADRÕES RUTINA E ACIDO ASCÓRBICO (AA), E PARA AS FRAÇÕES (FRH-CC, FRD-CC, FRAC-CC, FRR-CC, FRH-EC, FRD-EC, FRAC-EC, FRR-EC) OBTIDAS DO CAULE DE <i>Philodendron meridionale</i>	112
TABELA 16:	RESULTADOS DO ENSAIO DE FRAÇÕES DO EXTRATO BRUTO DO CAULE DE <i>Philodendron meridionale</i> PELA REDUÇÃO DO COMPLEXO FOSFOMOLIBDÊNIO	114
TABELA 17:	VIABILIDADE CELULAR PARA A LINHAGEM JURKAT FRENTE AO ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS E DE CAULES DE <i>Philodendron meridionale</i>	122
TABELA 18:	DISTRIBUIÇÃO PERCENTUAL DAS CÉLULAS CALU-3 TRATADAS COM EXTRATO CETÔNICO DO CAULE DE <i>Philodendron meridionale</i> QUANTO ÀS FASES DO CICLO CELULAR.	125
TABELA 19:	ATIVIDADE ENZIMÁTICA, RESPIRATÓRIA E MASSA SECA DE PLÂNTULAS DE <i>Lactuca sativa</i> SOB A AÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS (ECF, EEF, ECC E EEC) DE <i>Philodendron meridionale</i> NA CONCENTRAÇÃO DE 1,0 mg.mL ⁻¹	130
TABELA 20:	INABILIDADE (%) EM <i>Ctenocephalides felis</i> POR AÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DAS FOLHAS E CAULES DE <i>Philodendron meridionale</i>	135

TABELA 21: PERCENTUAL DE MORTALIDADE DE <i>Plutella xylostella</i> FRENTE AOS DOS EXTRATOS BRUTOS (ECF, EEF, ECC E EEC) DE <i>Philodendron meridionale</i>	138
--	-----

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1: ENQUADRAMENTO TAXONÔMICO DE <i>Philodendron meridionale</i> BUTURI & SAKUR.	32
QUADRO 2: FLUXOGRAMA DA PESQUISA CIENTÍFICA REALIZADA COM <i>Philodendron meridionale</i>	35
QUADRO 3: DIVISÃO DIDÁTICA DOS EXTRATOS E FRAÇÕES CETÔNICOS E ETANÓLICOS DE FOLHAS DE <i>Philodendron meridionale</i>	40
QUADRO 4: DIVISÃO DIDÁTICA DOS EXTRATOS E FRAÇÕES CETÔNICOS E ETANÓLICOS DE CAULES DE <i>Philodendron meridionale</i>	41

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1:	CURVAS DE CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC) PARA CAULES E FOLHAS DE <i>Philodendron meridionale</i>	66
GRÁFICO 2:	PERFIL DE DEGRADAÇÃO TÉRMICA (TG) DE FOLHAS SECAS DE <i>Philodendron meridionale</i>	68
GRÁFICO 3:	PERFIL DE DEGRADAÇÃO TÉRMICA (TG) DE CAULES SECOS DE <i>Philodendron meridionale</i>	68
GRÁFICO 4:	PORCENTAGEM DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (AA%) DOS EXTRATOS BRUTOS (ECF, EEF, ECC E EEC) DE <i>Philodendron meridionale</i> FRENTE AO DPPH'	108
GRÁFICO 5:	PORCENTAGEM DE REDUÇÃO DA OXIDAÇÃO (AA%) DOS EXTRATOS BRUTOS (ECF, EEF, ECC E EEC) DE <i>Philodendron meridionale</i> E O PADRÃO BHT, FRENTE AO TBARS	109
GRÁFICO 6:	PORCENTAGEM DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (AA%) DAS FRAÇÕES (FRH-CC, FRD-CC, FRAC-CC, FRR-CC) OBTIDAS DO EXTRATO (ECC) DE <i>Philodendron meridionale</i>	111
GRÁFICO 7:	PORCENTAGEM DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (AA%) DAS FRAÇÕES (FRH-EC, FRD-EC, FRAC-EC, FRR-EC) OBTIDAS DO EXTRATO (EEC) DE <i>Philodendron meridionale</i>	111
GRÁFICO 8:	PORCENTAGEM DE REDUÇÃO DA OXIDAÇÃO (AA%) DOS EXTRATOS DO CAULE (FRAC-CC, FRR-CC, FRAC-EC, FRR-EC) DE <i>Philodendron meridionale</i> E O PADRÃO BHT.....	113
GRÁFICO 9:	PORCENTAGEM DE ATIVIDADE HEMOLÍTICA (AH%) DOS EXTRATOS BRUTOS (ECF, EEF, ECC E EEC) DE <i>Philodendron meridionale</i>	116
GRÁFICO 10:	EFEITO DOS EXTRATOS BRUTOS (ECF, EEF, ECC E EEC) DE <i>Philodendron meridionale</i> SOBRE A VIABILIDADE DAS CÉLULAS JURKAT	119

GRÁFICO 11:	EFEITO DOS EXTRATOS BRUTOS (ECF, EEF, ECC E EEC) DE <i>Philodendron meridionale</i> SOBRE A VIABILIDADE DAS CÉLULAS HRT-18	120
GRÁFICO 12:	EFEITO DOS EXTRATOS BRUTOS (ECF, EEF, ECC E EEC) DE <i>Philodendron meridionale</i> SOBRE A VIABILIDADE DAS CÉLULAS HELA.....	120
GRÁFICO 13:	EFEITO DOS EXTRATOS BRUTOS (ECF, EEF, ECC E EEC) DE <i>Philodendron meridionale</i> SOBRE A VIABILIDADE DAS CÉLULAS CALU-3	121
GRÁFICO 14:	GERMINABILIDADE DE SEMENTES DE <i>Lactuca sativa</i> SOB A AÇÃO DOS EXTRATOS EXTRATOS BRUTOS (ECF, EEF, ECC E EEC) DE <i>Philodendron meridionale</i> EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES.....	126
GRÁFICO 15:	CRESCIMENTO DE RADÍCULAS E HIPOCÓTILOS DE PLÂNTULAS DE <i>Lactuca sativa</i> SOB A AÇÃO DOS EXTRATOS EXTRATOS BRUTOS (ECF, EEF, ECC E EEC) DE <i>Philodendron meridionale</i> EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES.....	129

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	17
2.	REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1.	FAMÍLIA ARACEAE	19
2.2.	GÊNERO <i>Philodendron</i>	21
2.2.1.	Aspectos químicos e biológicos relacionados ao <i>Gênero Philodendron</i>	23
2.3.	<i>Philodendron meridionale</i> BUTURI & SAKUR	31
3.	MATERIAL E MÉTODOS	35
3.1.	OBTENÇÃO DO MATERIAL BOTÂNICO	36
3.2.	ENSAIOS DE PUREZA	36
3.2.1.	Determinação da perda de água por dessecação	36
3.2.2.	Determinação de cinzas totais	37
3.2.3.	Análise térmica	37
3.3.	ESTUDO MORFOANATÔMICO	37
3.4.	ÓLEO ESSENCIAL	39
3.4.1.	Extração e determinação quantitativa do óleo essencial	39
3.4.2.	Identificação dos compostos do óleo essencial	40
3.5.	EXTRATOS	40
3.5.1.	Obtenção dos extratos cetônicos	41
3.5.2.	Obtenção dos extratos etanólicos	42
3.5.3.	Isolamento e caracterização das substâncias	42
3.5.3.1.	Screening fitoquímico por cromatografia em camada delgada (CCD)	42
3.5.3.2.	Screening fitoquímico por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	44
3.5.3.3.	Pesquisa de Heterosídeos Saponínicos	44
3.5.3.4.	Determinação de fenólicos totais e flavonoides	44
3.5.3.5.	Isolamento por coluna cromatográfica aberta (CC) e identificação de substâncias	45
3.5.3.5.1.	Extrato Cetônico da Folha (ECF) – fração (FrH-CF)	46
3.6.	TESTES QUÍMICOS E BIOLÓGICOS	47

3.6.1.	Atividade antioxidante	47
3.6.1.1.	Avaliação da atividade antioxidante pelo método do 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH [•])	47
3.6.1.2.	Avaliação da atividade antioxidante com espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)	49
3.6.1.3.	Avaliação da atividade antioxidante pelo ensaio da redução do complexo fosfomolibdênio	50
3.6.2.	Atividade Hemolítica	51
3.6.3.	Atividade antimicrobiana	51
3.6.3.1.	Concentração Inibitória Mínima (CIM)	52
3.6.3.2.	Concentração Bactericida Mínima (CBM)	52
3.6.4.	Atividade citotóxica sobre células tumorais	53
3.6.4.1.	Cultura celular	53
3.6.4.2.	Ensaio da viabilidade celular pelo método de redução do MTT (3-(4,5 dimetiltiazol-2yl)-2-5-difenil-2H tetrazolato de bromo)	53
3.6.4.3.	Análise morfológica das células calu-3 por ação do extrato ECC.	55
3.6.4.4.	Análise do ciclo celular de calu-3 por ação do extrato ECC	55
3.6.5.	Atividade Alelopática	56
3.6.5.1.	Preparo do teste	56
3.6.5.2.	Teste de germinação	57
3.6.5.3.	Teste de crescimento	57
3.6.5.4.	Respiração radicular	57
3.6.5.5.	Atividade enzimática	58
3.6.5.5.1.	Atividade da catalase (CAT) (EC 1.11.1.6)	58
3.6.5.5.2.	Detecção da α -amilase (EC 3.2.1.1)	59
3.6.5.5.3.	Atividade da polifenoloxidase (PPO) (EC 1.10.3.1)	59
3.6.5.5.4.	Atividade da ascorbato peroxidase (APX) (EC 1.11.1.11)	60
3.6.6.	Atividade Inseticida (ex vivo)	60
3.6.6.1.	Atividade do óleo essencial de <i>P. meridionale</i> frente ao <i>Ctenocephalides felis</i> Bouché	60
3.6.6.2.	Avaliação da atividade fumegante	61
3.6.6.3.	Avaliação da atividade inseticida por ação tópica	61
3.6.7.	Atividade Larvicida	62

3.6.7.1.	Criação de <i>Plutella xylostella</i> Linnaeus	62
3.6.7.2.	Avaliação da atividade larvicida por imersão dos discos de couve	63
3.6.7.3.	Avaliação da atividade larvicida por ação tópica	64
4.	ANÁLISE DE RESULTADOS	65
4.1.	ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DO MATERIAL VEGETAL	65
4.1.1.	Análise Térmica	66
4.2.	ESTUDO MORFOANATÔMICO	70
4.2.1.	Folha	70
4.2.2.	Caule	80
4.3.	ÓLEO ESSENCIAL	82
4.4.	EXTRATOS	87
4.4.1.	Screening fitoquímico dos Extratos Brutos (ECF, EEF, ECC, EEC) por CCD e por reações específicas	88
4.4.2.	Screening fitoquímico dos Extratos Brutos (ECF, EEF, ECC, EEC) por CLAE	90
4.4.3.	Análise de fenólicos totais e flavonoides	91
4.4.4.	Extrato cetônico da folha (ECF) - fração (FrH-CF) - Identificação de compostos	92
4.5.	TESTES QUÍMICOS E BIOLÓGICOS	107
4.5.1.	Atividade Antioxidante	107
4.5.2.	Atividade Hemolítica	115
4.5.3.	Atividade Antimicrobiana	117
4.5.4.	Avaliação sobre Células Tumoriais	118
4.5.4.1.	Ensaio de viabilidade celular “ <i>in vitro</i> ” pelo método de redução do MTT	118
4.5.4.2.	Atividade citotóxica do óleo essencial de <i>P. meridionale</i> frente a células Jurkat	122
4.5.4.3.	Análise morfológica das células calu-3 por ação do extrato ECC.	123
4.5.5.	Atividade Alelopática	125
4.5.6.	Atividade inseticida frente <i>Ctenocephalides felis</i>	135
4.5.7.	Atividade larvicida frente a <i>Plutella xylostella</i>	138
5.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	141
	REFERÊNCIAS	143

ANEXO 1	169
ANEXO 2	170

1. INTRODUÇÃO

A busca pelo bem-estar e pelo prazer sempre estimulou o homem, em todas as épocas, a se aproximar da natureza, ensinando-o a se utilizar das plantas e de suas substâncias (BARREIRO; FRAGA, 2008).

A utilização das plantas medicinais faz parte da história da humanidade, sendo os primeiros recursos terapêuticos utilizados pelos povos. A descoberta das propriedades úteis ou nocivas dos vegetais ocorreu por meio do conhecimento empírico, ou seja, da observação feita pelos homens do comportamento dos animais, por exemplo (BRANDELLI, 2017). O hábito de recorrer às virtudes curativas de certos vegetais, se trata de uma das primeiras manifestações culturais, onde se tinha por costume utilizar determinada planta ou parte dela para o tratamento de enfermidades (REZENDE; COCCO, 2002).

Até meados do século XX, as plantas medicinais e seus derivados constituíam a base da terapêutica medicamentosa. A síntese química, que teve início no fim do século XIX, iniciou uma fase de desenvolvimento decorrente de tecnologias na elaboração de fármacos sintéticos (BRANDELLI, 2017).

Importantes fármacos como: morfina, quinidina, codeína, salicina, atropina, efedrina, entre outros; foram isolados de plantas medicinais durante o século XIX. Outros importantes fármacos foram sintetizados a partir do conhecimento de estruturas químicas e do planejamento racional de moléculas bioativas advindas de produtos naturais, como o ácido acetil salicílico, penicilina, neomicina, sulfonamida, entre outras (VIEGAS JÚNIOR; BOLZANI; BARREIRO, 2006; YUNES; CECHINEL FILHO, 2016).

Os produtos naturais são fontes de protótipos para novos fármacos através da modelagem molecular e da química combinatória, constituindo fontes de grandes diversidades estruturais (YUNES; CECHINEL FILHO, 2016). O composto descoberto pode ter sua eficácia otimizada por modificações moleculares subsequentes, introduzida de forma planejada e capazes de preservar as propriedades farmacocinéticas identificadas nos bio ensaios “*in vivo*” (BARREIRO; FRAGA, 2008).

A natureza, de um modo geral, é a responsável pela produção da maioria das substâncias orgânicas conhecidas. A variedade e a complexidade das moléculas que constituem os metabólitos secundários de plantas e organismos marinhos, caracterizam as diferentes ações biológicas para o vegetal, como a defesa da planta

contra agentes agressores ou atração a polinizadores (VIEGAS JÚNIOR; BOLZANI; BARREIRO, 2006), assim como podem ser utilizados no tratamento de doenças, seja como um composto isolado ou na composição de extratos e óleos, promovendo interações sinérgicas.

A espécie *Philodendron meridionale* Buturi & Sakur. (Araceae) é uma planta com recente identificação botânica (BUTURI; TEMPONI; SAKURAGUI, 2014). É encontrada nos estados do Paraná e Santa Catarina, sendo que nenhuma investigação preliminar foi focada nas atividades medicinais decorrentes do seu uso. Além disso, a composição química do extrato e do óleo essencial de *P. meridionale* ainda não são conhecidas. Assim, considerando o potencial medicinal do gênero, o presente estudo é centrado na avaliação química e biológica de *P. meridionale*, com o propósito de ampliar o conhecimento de suas propriedades terapêuticas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FAMÍLIA ARACEAE

O termo Araceae se origina da palavra grega “arum” ou “aron” que significa colheita ou produtos do campo. A família Araceae é constituída atualmente por oito subfamílias (Gymnostachydoideae, Pothoideae, Oronthioideae, Lasioideae, Lemnoideae, Philodendroideae, Pistioideae e Zamiculcadoideae). Araceae compreende um grupo de herbáceas com 117 gêneros e, aproximadamente, 4000 espécies de hábitos variados, sendo 34 gêneros endêmicos das Américas (CATE-Araceae, 2016). A família Araceae pertencente a ordem Alismatales, e tem como característica principal a presença de uma espádice, com flores uni ou bissexuais, subentendida por uma espata, ambas apoiadas num pedúnculo longo ou curto (COELHO, 2010b).

No Brasil as Araceae estão dispersas em 35 gêneros e 460 espécies (SANTOS, 2011). Dentre os gêneros com maior número de espécies, destacam-se *Anthurium* e *Philodendron* (FIGURA 1), com muitos representantes nativos do Brasil (OTTOBELLI et al., 2011; SANTOS, 2011; SILVA et al., 2013). Por apresentarem uma beleza característica devido à diversidade de suas folhagens, esses gêneros são muito utilizados na floricultura, como plantas ornamentais.

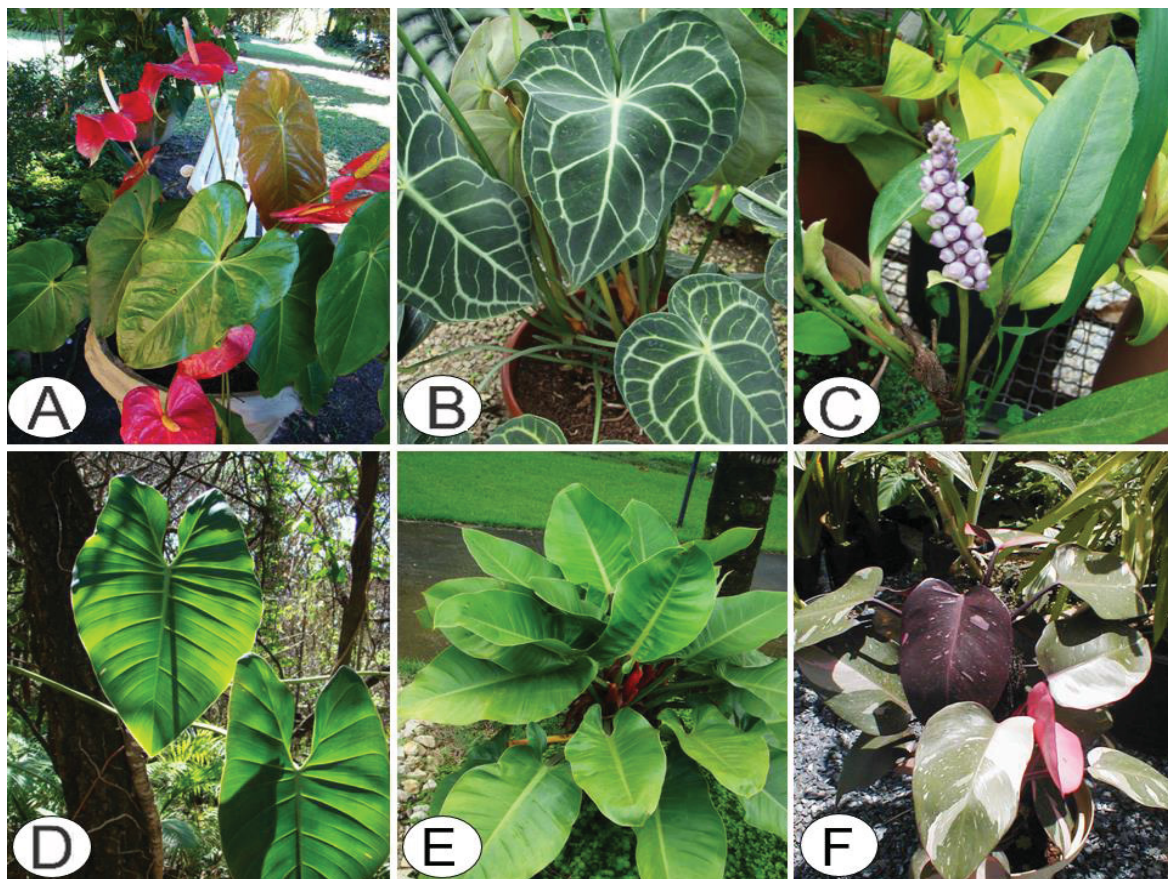
Segundo Santos (2011), apresentam-se em variadas formas, ervas, trepadeiras, geófitas (caule tuberoso e subterrâneo), epífitas (sobre plantas), rupícolas (sobre rochas), reófitas (plantas resistentes a correntes aquáticas) e helófitas (plantas que crescem ao longo ou as margens de rios). Caracterizadas como monocotiledôneas, estas plantas pertencem ao grupo de angiospermas cujo embrião possui um único cotilédono.

As florestas tropicais úmidas possuem um *habitat* com as características ideais para a dispersão dessa família, onde são verificadas a sua maior diversidade, e o que pode estar relacionado com o fato de aproximadamente 70% das espécies possuírem hábito epifítico e hemiepifítico (GRAYUM, 1990; PONTES; ALVES, 2011).

A termogênese foi relatada em flores, inflorescências ou cones em várias famílias de plantas Araceae. É bem aceito que a termogênese em plantas costuma estar relacionada à atração de polinizadores por volatilização de aromas e ao permitir que uma espécie cresça em um clima frio (ZHU et al., 2011). Este fato, torna-se

importante para o estudo fitoquímico e caracterização das plantas dessa família pela provável relação com substâncias voláteis e óleos essenciais.

FIGURA 1: PLANTAS DA FAMÍLIA ARACEAE



Exemplares do Gênero *Anthurium*. A: *Anthurium andraeanum* Linden ex André; B: *Anthurium crystallinum* Engl; C: *Anthurium trinerve* Linden ex André. Exemplares do Gênero *Philodendron*. D: *Philodendron cordatum* Kunth ex Schott; E: *Philodendron speciosum* Schott ex Endl; F: *Philodendron martianum* Engl. FONTE: CEAP – design, 2016.

Na medicina tradicional, Araceae destaca-se por ser utilizada como contraceptivo, no tratamento de doenças reumáticas e da pele, contra vermes intestinais, mordedura de cobra e hemorroidas (SANTOS, 2011; DIAZ et al., 2011; OTTOBELLI et al., 2011). Acebey et al. (2010), destacam que as partes mais utilizadas de plantas Araceae para fins medicinais na região da Bolívia, são as folhas, caules e seivas, pela facilidade da coleta, devido ao fato de serem epífitas, e o que de certa forma, ajuda a sobrevivência das plantas.

Algumas espécies são utilizadas para fins alimentícios, como exemplo *Colocasia esculenta* (L.) Schott e *Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott, ricas em amido e consumidas na culinária asiática (DIAZ et al., 2011).

Embora apresente usos populares, a toxicidade é uma das principais características da família Araceae, como observado em *Dieffenbachia seguine* (Jacq.) Schott, conhecida popularmente como “Comigo ninguém pode”. Os constituintes químicos responsáveis pelos efeitos tóxicos ainda são, em sua maior parte, desconhecidos. Inicialmente, alguns autores atribuíram os mecanismos tóxicos à ação das ráfides de oxalato de cálcio (RIZZINI; OCCHIONI, 1957; ARDITTI; RODRIGUEZ, 1982), que segundo Saito e Lima (2009), devido à forma como estes cristais são liberados, se formam em idioblastos que funcionam como células injetoras. Segundo Santos (2011), os cristais de oxalato de cálcio não são os responsáveis pela toxicidade, mas participam do mecanismo tóxico, provocando uma lesão e expondo o organismo do indivíduo à substância tóxica.

2.2 GÊNERO *Philodendron*

O gênero *Philodendron* Schott é o segundo maior gênero pertencente à família Araceae, com cerca de 480 espécies exclusivamente neotropicais (BOYCE; CROAT, 2016) e por sua beleza apresenta amplo uso ornamental.

Existem cerca de 168 espécies de plantas do gênero *Philodendron* distribuídas pelo Brasil (COELHO et al., 2016), no entanto, esses números podem ser aumentados pelo reconhecimento de novas espécies, como aconteceu recentemente com Coelho (2010a), Gonçalves (2011), Calazans e Sakuragui (2013), Buturi, Temponi e Sakuragui (2014), Gonçalves e Arruda (2014), Calazans, Antas e Sakuragui (2015) e Irume et al. (2017).

O nome vem do grego *philos* (amigo) e *dendron* (árvore). O gênero *Philodendron* constitui plantas hemiepífitas ou epífitas e poucas são heliófitas, raramente arborescentes. Plantas com essas características geralmente apresentam formas diferenciadas a fim de se adaptar às condições adversas à sua sobrevivência, dentre as quais, a presença de longas raízes geotrópicas e a presença do hábito lenhoso de alguns representantes. Outras, são capazes de dispensar a conexão caulinar com o solo e sobreviver no ambiente epifítico conquistado à custa do crescimento vegetativo (WAECHTER, 1992; COELHO; MAYO, 1998; SCHÜTZ-GATTI, 2000; CAGLIONI et al., 2012).

Constituem-se em ervas sempre verdes, com caule aéreo produzindo uma sucessão de folhas alternadas com bainhas bem desenvolvidas, cada uma

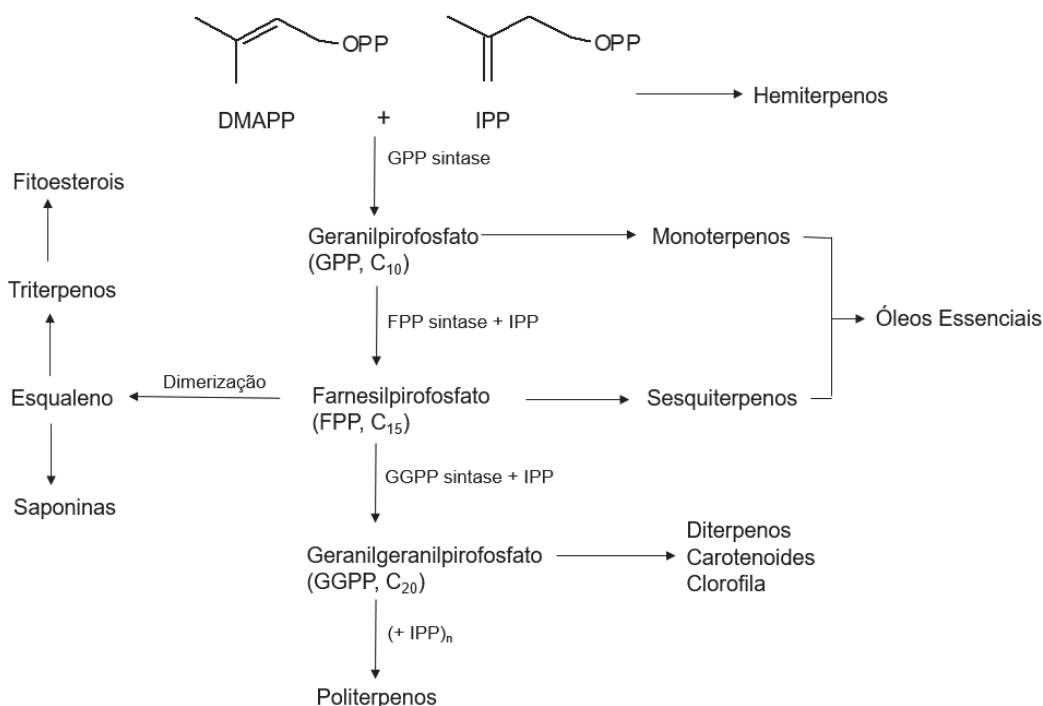
subtendendo um simples botão axilar primário (COELHO, 2000). Folhas inteiras com venação peniparalelinérvea e pecíolo não maculado sem genúculo apical (SAKURAGUI; MAIO; COELHO, 2007). As folhas com lâmina foliar elíptica a lanceolada, oblanceolada, ovada ou cordada, inteira ou pinatífida, em geral coriácea. A espádice é monóica com flores unissexuais faltando perigônio. As flores femininas dispostas na base e as masculinas na parte superior, geralmente são separadas por uma zona de flores estéreis masculinas (estaminodiais). Os caracteres comuns de todas as inflorescências de *Philodendron* são: o pedúnculo quase sempre relativamente curto, espata ereta em completa floração e persistente até o amadurecimento do fruto. Sementes uma a muitas por fruto, do tipo baga (DISLICH; MANTOVANI, 1998; COELHO, 2000). Dois tipos de raízes podem ser observados: raízes curtas grampiformes em forma de cabeleira adesiva, geralmente estendendo-se em ângulo reto ao caule prendendo a planta à superfície trepadora; e raízes longas alimentadoras que descem ao solo com a finalidade de absorver água e nutrientes (COELHO, 2000).

Conforme levantamento bibliográfico realizado, há poucas espécies de *Philodendron* que apresentam algum tipo de estudo anatômico que venha a colaborar com a diferenciação e identificação das espécies (SAITO; LIMA, 2009; TENORIO; SAKURAGUI; VIEIRA, 2012; KLIMKO; WAWRZYNSKA; WILAND-SZYMANSKA, 2014; TENORIO; SAKURAGUI; VIEIRA, 2014; GONÇALVES-SOUZA; GONÇALVES; PAIVA, 2016). No Brasil, o gênero *Philodendron* apresenta dois centros de diversidade genética: um centrado no sudeste do país, na região da Floresta Atlântica e outro na Amazônia. Estes dois centros refletem um padrão geográfico ligado a aspectos morfológicos do grupo: o grupo da Amazônia apresenta lóculos do ovário uniovulados com placentação basal, enquanto o grupo do Sudeste Brasileiro apresenta lóculos do ovário pluriovulados com placentação sub-basal (SAKURAGUI, 2001). Apesar de potenciais alterações resultantes de análises filogenéticas recentes (YENG et al., 2013), constituem espécies divididas em três subgêneros: *Meconostigma* (Schott) Engler, *Pteromischum* (Schott) Mayo e *Philodendron* (Mayo), sendo bem distintos em morfologia floral e vegetativa, anatomia floral e distribuição geográfica (COELHO; MAYO, 1998; SAKURAGUI, 2001).

2.2.1 Aspectos químicos e biológicos relacionados ao Gênero *Philodendron*

A produção de óleos essenciais é uma característica do gênero, sendo derivados de três rotas principais do metabolismo secundário: a via do metileritritol (monoterpenos e diterpenos), a via do mevalonato (sesquiterpenos) e a via do chiquimato (fenilpropenos). A via dos policetídeos também contribui com a formação de substâncias alifáticas e aromáticas (não fenilpropanoides) (BAKKALI et al., 2008; HENRIQUES; DANIELLI; APEL, 2016). A (FIGURA 2) mostra a síntese geral de formação de alguns terpenoides encontrados em plantas superiores.

FIGURA 2: BIOCÍNTese GERAL DA FORMAÇÃO DE TERPENOIDES



FONTE: NIERO; MALHEIROS, 2016.

A série terpênica é o grupo químico de maior ocorrência e com maior variabilidade estrutural presente em óleos essenciais (HENRIQUES; DANIELLI; APEL, 2016). Os monoterpenos e sesquiterpenos, como estruturas terpênicas de menor massa molecular, apresentam volatilidade acentuada. Essa característica, por sua vez, apresenta grande importância para o aroma dos produtos naturais (FARKAS; MOHÁCSI-FARKAS, 2014).

Os terpenoides são a classe de produtos naturais de hidrocarbonetos estruturalmente diversificado pela ciclização e/ou rearranjo de precursores acíclicos catalisados por terpenos sintases. Estes precursores surgem do acoplamento de isoprenoides, isopentenil difosfato (IPP) e dimetilalil difosfato (DMAPP), em difosfatos de poliisoprenoides de cadeia mais longa. De particular interesse aqui são os monoterpenos (10 carbonos) cujo precursor é o geranil difosfato (GPP), sesquiterpeno (15 carbonos) cujo precursor é o farnesil difosfato (FPP) e diterpenos (20 carbonos) com o precursor geranilgeranil difosfato (GGPP) (ZHOU; PETERS, 2011; KITAOKA et al., 2015).

A capacidade de acumular óleos voláteis não é uma característica de todos os vegetais e está associada à presença de estruturas anatômicas especializadas como células secretoras (idioblastos), cavidades ou ductos no interior de tecidos vegetais e tricomas glandulares nas superfícies externas dos diferentes órgãos (SIMÕES; SPITZER, 2000; HENRIQUES; DANIELLI; APEL, 2016). Os poucos estudos que caracterizam a composição química de óleos essenciais obtidos de plantas do gênero *Philodendron*, estão apresentados na (TABELA 1).

TABELA 1: COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS OBTIDOS DE PLANTAS DO GÊNERO *Philodendron* - ARACEAE.

ESPÉCIE	PARTES DA PLANTA	COMPOSIÇÃO	REFERÊNCIAS
<i>Philodendron acutatum</i> Schott	Raiz	α -pineno (0–23.2%), β -pineno (0–21.8%), 2-undecanono (0–12.7%), 2-tridecanono (1.2–34.3%), β -bisaboleno (0.8–49.5%) e outros 25 compostos.	continua VIANA; ANDRADE-NETO; POULIQUEN, 2002.
<i>Philodendron bipinnatifidum</i> Schott	Raiz	β -bisaboleno (65.3%), trans- α -bergamoteno (9.9%), α -pineno (13.3%), β -pineno (15.8%), limoneno (15.5%), espathulenol (14.2%) e óxido de cariofileno (10.3%) e outros 55 compostos.	SANTIAGO et al., 2014.
<i>Philodendron deflexum</i> Poepp	Raiz	β -Bisaboleno, Limoneno, Undecanol, Isoledeno, α -Copaene, Butil butyryl lactato, β -Caryophyllene, m-Cymene, β -Selinene e outros 32 compostos.	ALLIANCE et al., 2017.
<i>Philodendron fragrantissimum</i> (Hook.) G. Don	Folhas	β -bisaboleno (47,27%), α – copaene (5,29%), δ -cadinene (2,11%) e outros 25 compostos.	JOFFARD et al., 2017
	Raiz	β -selineno (13,15%), D-germacrene (6,26%), β -cariofileno (2, 89%) e outros 34 compostos.	

TABELA 1: COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE ÓLEOS ESSENCIAIS OBTIDOS DE PLANTAS DO GÊNERO *Philodendron* - ARACEAE.

ESPÉCIE	PARTES DA PLANTA	COMPOSIÇÃO	conclusão REFERÊNCIAS
<i>Philodendron fragrantissimum</i> (Hook.) G. Don	Raiz	β -cariofileno (29.9%), limoneno (15.8%), β -selineno (11.5%), α -selineno (15.7%), α -pineno (3.4%), α -copaeno (3.2%), β -pineno (2.5%) e δ -cadineno (2.9%) e outros 27 compostos.	CASTELLAR et al., 2013.
<i>Philodendron goeldii</i> G.M. Barroso	Raiz	Limoneno (42,27%), β -cariofileno (15,03 %) e α -humuleno (10,40 %). e outros 21 compostos.	SILVA et al., 2016.
<i>Philodendron imbe</i> Schott	Raiz	α -pineno (13,3%), β -pineno (15,8%), limoneno (15,5%), espatulenol (14,2%) e óxido de cariofileno (10,3%).	BEZERRA et al., 2002.
<i>Philodendron maximum</i> K. Krause - 2 espécimes	Raiz	Espécime 1: β -cariofileno (28,29%), D-germacrene (13,22%) e α -copaeno (11,52%) e outros 16 compostos. Espécime 2: undecanol (26,54 %), lactato de butil-butila (12,59 %), pentadecanol (11,94%) e octadeceno (11,82%) e outros 15 compostos.	SILVA et al., 2016.
<i>Philodendron melinonii</i> Brongn.	Folhas	D-Germacrene e E- β -farneseno (como componentes majoritários) e outros 68 compostos.	JOFFARD et al., 2017
	Raiz	D-Germacrene , E- β -farneseno, β -cariofileno (como componentes majoritários) e outros 106 compostos.	
<i>Philodendron scabrum</i> K. Krause	Caules	Óxido de cariofileno (22.42%), α -copaeno (16.08%), β -bisaboleno (12.01%) e α -zingibereno, α -bergamoteno, α -curcumeno, óxido de humuleno, α e β -pineno, e limoneno	OTTOBELLI et al., 2011.
<i>Philodendron solimoesense</i> A.C. Smith	Raiz	Local 1: undecanol (13,52%), β -bisaboleno (11,64%), trans- γ -bisaboleno (10,65%) e β -cariofileno (10,18%) e outros 20 compostos. Local 2: β -cariofileno (33,97%) e α -humuleno (18,23%) e outros 32 compostos.	SILVA et al., 2016.
<i>Philodendron</i> sp.	Caule	Cipó fresco: β -cariofileno (12,09%), β -cadineno (11,76%) e m-cimeno (10,24%) e outros 45 compostos. Cipó seco: isodieno (17,83%), α -copaeno (13,15%) e β -cariofileno (11,98%) e outros 36 compostos.	BACCHUS et al., 2015.

A composição do óleo essencial pode variar de espécie para espécie, considerando parâmetros climáticos e fatores agrônômicos como fertilização, irrigação, época da colheita e especialmente a fase de desenvolvimento da planta na data da colheita (KERROLA; GALAMBOSI; KALLIO, 1994). Esse fato foi observado nos estudos de *P. maximum*, *P. solimoesense* (SILVA et al., 2016), *P.*

acutatum (VIANA; ANDRADE-NETO; POULIQUEN, 2002), e em *Philodendron* sp. (BACCHUS et al., 2015).

Os monoterpenos limoneno e α e β -pineno, e os sesquiterpenos como bisaboleno, cariofileno, α -copaeno, foram identificados em diversas espécies de *Philodendron*, com diferentes concentrações, sendo componentes majoritários em algumas delas (VIANA; ANDRADE-NETO; POULIQUEN, 2002; BEZERRA et al., 2002; OTTOBELLI et al., 2011; CASTELLAR et al., 2013; SANTIAGO et al., 2014; BACCHUS et al., 2015; SILVA et al., 2016; JOFFARD et al., 2017; ALLIANCE et al., 2017). Já os constituintes humuleno, bergamoteno, undecanol, cadineno foram citados em pelo menos duas das espécies estudadas (OTTOBELLI et al., 2011; CASTELLAR et al., 2013; SANTIAGO et al., 2014; BACCHUS et al., 2015; SILVA et al., 2016; ALLIANCE et al., 2017), não sendo caracterizados como constituintes comuns às espécies.

Quanto a atividade biológica dos óleos essenciais de plantas do gênero *Philodendron* há apenas dois relatos, Santiago et al. (2014) apresentam a atividade inseticida de raízes de *P. bipinnatifidum* sobre *Diabrotica speciosa* (Germar) (Coleoptera: Chrysomelidae), enquanto Silva et al. (2016) avaliam a ação antibacteriana do óleo essencial de *P. goeldii* por meio da técnica de bioautografia, com a inibição do crescimento de *Corynebacterium glutamicum* (Jacq.) Schott.

Também há poucos estudos sobre os constituintes químicos identificados a partir de extratos obtidos de espécies do gênero *Philodendron*. Uma revisão bibliográfica sobre esses estudos é apresentada na (TABELA 2).

Polifenóis e flavonoides foram quantificados por Rongai et al. (2015) em *Philodendron crassinervium* Lindl. Williams; Harborne e Mayo (1981) identificaram flavonoides em 25 espécies de plantas do gênero *Philodendron*. O flavonoide quercetina foi encontrado em seis dessas espécies, e campferol em apenas duas. A cianidina foi reconhecida em nove espécies, rutinosida e glucosida em oito, isoramnetina em três, shaftosideo e isoshaftosideo foram encontrados em duas espécies, orientina, isoorientina, luteolina e apigenina apenas uma vez, em espécies diferentes. Os mesmos autores afirmam que, embora a presença de flavonas seja evidente, elas sempre ocorrem como flavona C-glicosídeos, destacando esse grupo de metabólitos como os componentes das folhas com maior significância para o gênero. Até o momento não foram publicados trabalhos que contrastem essa afirmação.

TABELA 2: COMPONENTES QUÍMICOS OBTIDOS A PARTIR DE EXTRATOS DE PLANTAS DO GÊNERO *Philodendron* - ARACEAE.

ESPÉCIE	PARTE DA PLANTA	EXTRATO OU FRAÇÃO	METABÓLITOS/SUBSTÂNCIA ISOLADA	continua REFERÊNCIAS
<i>Philodendron amurense</i> (Kihada)	Frutos	Extrato metanólico	Limonoides: Kihadalactone A e B, Niloticina, 1-3 dihidroniloticina, acetato de niloticina, piscidinol A, hispidol B, 4-q, bourjotinolona A e hispidona	KISHI; YOSHIKAKA; ARIHARA, 1992.
<i>Philodendron amurense</i>	Sementes	N/C	Limonoides: Limonina, obakunona, 17-β-D-glucopiranosídeo de limonina e 17-β-D-glucopiranosídeo de obakunona	MIYAKE et al., 2008.
<i>Philodendron andreaeanum</i> Devans	Inflorescências	N/C	Aminas: para-coumarilputrescina, cafeilputrescina, ferulilputrescina, feruliltiramina, tiramina e dopamina	PONCHET et al., 1980.
<i>Philodendron augustifolium</i> Engl	Folhas e caules	Fr éter de petróleo	Heptadecenilresorcinol	REFFSTRUP; BOLL, 1985 e KNIGHT et al., 1996
<i>Philodendron bipinnatifidum</i> Schott	Folhas	Extrato metanólico	Compostos fenólicos: p-hidroxi fenil etil β-D-Glucopiranosil (1-2) e β-D-Glucopiranosil (1-3 4-O-trans caffeoil-O-α-L-rhamnopyranosida.	EL-DEEB et al., 2012.
	Raízes	Fr etanólica	Taninos e saponinas	REIS; GUIMARÃES; TOMA, 2017.
<i>Philodendron erubescens</i> K. Koch & August	Inflorescências	N/C	Aminas: tiramina e dopamina	PONCHET et al., 1980.
	Folhas e caules	Fr éter de petróleo	Heptadecenilresorcinol e oxicardium-pentadecenil	REFFSTRUP; BOLL, 1985 e KNIGHT et al., 1996.
<i>Philodendron fragrantissimum</i> Kunth	Folhas	Extrato hexânico	Terpenos: β-bisabolene, α- e β-selineno, α- e β-bisabolol, E-β Farneseno	JOFFARD et al., 2017.
	Raízes	Extrato hexânico	Terpenos: α- e β-selineno	JOFFARD et al., 2017.
<i>Philodendron guttiferum</i> Kunth	toda	Extrato metanólico Fr acetato de etila	Esteroides: 2-octanoilciclo-hexano-1,3-diona 1 /estigmasterol e b-sitosterol	EL-SEEDI et al., 2001.
<i>Philodendron imbe</i> Schott	Folhas	Extrato etanólico	Poliprenoides: hexaprenol (1) e os esteroides βsitosterol e 6β-hidroxi-estigmast-4-en-3-ona	FEITOSA; BEZERRA, 2007.
	Raízes	Extrato etanólico	Ácidos graxos e esteroides: miristoleato de etila, α-bisabolol, isopalmitato de etila, 3 octadecenil-fenol e palmitato de etila	FEITOSA; BEZERRA, 2007.
<i>Philodendron lacerum</i> (Jacq) Schott	Folhas e caules	Fr éter de petróleo	Pentadecil, pentadecenil e heptadecadienilresorcinol	KNIGHT et al., 1996
<i>Philodendron martianum</i> Engl	Inflorescências	N/C	Aminas: tiramina e dopamina	PONCHET et al., 1980.
<i>Philodendron megalophyllum</i> Schott	Raízes	Extrato aquoso	Taninos e flavonoides	MOURA et al., 2015

N/C: não consta

TABELA 2: COMPONENTES QUÍMICOS OBTIDOS A PARTIR DE EXTRATOS DE PLANTAS DO GÊNERO *Philodendron* - ARACEAE.

ESPÉCIE	PARTE DA PLANTA	EXTRATO OU FRAÇÃO	METABÓLITOS/SUBSTÂNCIA ISOLADA	conclusão REFERÊNCIAS
<i>Philodendron melinonii</i> Brongn	Folhas	Extrato hexânico	Terpenos: D-germacrene e E- β -farneseno	JOFFARD et al., 2017.
	Raízes	Extrato hexânico	Terpenos: D-germacrene e E- β -farneseno, A-pineno, β -pineno e mirceno	JOFFARD et al., 2017.
<i>Philodendron radiatum</i> Schott	Folhas e caules	Fr éter de petróleo	5- tridecilresorcinol; pentadecenil-; heptadecadienil- e heptaceceniresorcinol	REFFSTRUP; BOLL, 1985 e KNIGHT et al., 1996.
<i>Philodendron scabrum</i> K. Krause	Raiz	Extrato etanólico	β -sitosterol e o alquilresorcinol 1-hexadecanoil-2,6-dihidroxibenzeno	OTTOBELLI et al., 2011.
<i>Philodendron scandens</i> Koch & Sello	Inflorescências	N/C	Aminas: para-coumarilputrescina, cafeilputrescina, ferulilputrescina, e tiramina	PONCHET et al., 1980.
	N/C	N/C	Ácidos fenólicos: ácido anacárdico	KHADEM; MARLES, 2010.
<i>Philodendron scandens</i> Koch & Sello subsp. <i>oxycardium</i>	Folhas e caules	Fr éter de petróleo	Heneicosatetraenil, tricosatetraenil, pentacosatetraenil e heptadecadienilresorcinol	REFFSTRUP; BOLL, 1985 e KNIGHT et al., 1996.
<i>Philodendron scandens</i> Koch & Sello subsp. <i>scadens</i>	Folhas e caules	Fr éter de petróleo	Heptadecenilresorcinol, oxicardium-pentadecenil e Pentadecil, heptadecatrienil, e heptadecadienilresorcinol	KNIGHT et al., 1996.
<i>Philodendron scandens</i> Koch & Sello outra subsp	Folhas e caules	Fr éter de petróleo	Oxitério 5- pentadecilresorcinol, S-heptadecatri-8 (Z), II (Z), 14 (Z) – enilresorcinol, heptadecenil- e heptadecadienilresorcinol	REFFSTRUP; BOLL, 1985
<i>Philodendron selloum</i> C. Koch	Inflorescência	Voláteis eluidos em acetona	Compostos aromáticos metoxilados: 4-metoxi-estireno, 3,4-dimetoxi-estireno Z -jasmona e E-8 (9) -desidro-4 (5) -di-hidro-theaspirona	DÖTTERL et al., 2012.
<i>Philodendron solimoensis</i> G. M. Barroso	Caules	Latex	Triterpenos: lupane, oleanane e ursane	LAGO et al., 2016.
<i>Philodendron tripartium</i> (Jacq) Schott	Inflorescências	N/C	Aminas: p-coumarilespermidina, cafeilespermidina, ferulilespermidina, tiramina e dopamina	PONCHET et al., 1980.

N/C: não consta

Diaz et al. (2011), estudaram as espécies *Philodendron appendiculatum* Nadruz & Mayo, *P. cordatum* e *Philodendron loefgrenii* Engl, e relatam a presença de ácidos graxos saturados e insaturados, destacando o ácido palmítico como componente majoritário em folhas e raízes, e o ácido linoleico na porção apical das flores.

Mayo, Bogner e Boyce (1997) afirmam que o gênero *Philodendron* apresenta resinas em sua constituição, podendo apresentar canais resiníferos em folhas, caules e raízes e que esse é o único gênero de Araceae no qual ocorre a liberação de resina na inflorescência, a qual quando secretada cobre o corpo dos besouros polinizadores e atua como aderente para o grão de pólen. Os mesmos autores comentam que canais de mucilagem são de ocorrência relativamente limitada em Araceae.

Segundo Gonçalves-Souza et al. (2017), as espécies de *Philodendron* atraem seus polinizadores através de uma relação funcional entre termogênese e volatilização de secreções de osmóforos. A composição do aroma liberado pelas inflorescências de *P. selloum* foi estudada por Dötterl et al. (2012), que concluíram que compostos aromáticos metoxilados são os responsáveis pela atração de polinizadores, com destaque para 4-metoxiestireno, o composto mais abundante, além de (Z) -jasmona e 3,4-dimetoxiestireno. Já Pereira et al. (2014), ao estudarem inflorescências de *Philodendron adamantinum* Schott, encontraram dihidro- β -ionone como componente majoritário (89,67%) e concluíram que esta substância apresenta atração para insetos polinizadores, no entanto, quando testada em conjunto com metil-jasmona, esse efeito foi potencializado. Outros estudos também relatam substâncias aromáticas encontradas em inflorescências de plantas do gênero *Philodendron*, como dihydro- β -ionone e 2-bydroxi-5-metil-3-hexanona em *P. acutatum* (MAIA et al., 2010) e (Z)-2-pentenyl acetate em *P. bipinnatifidum* (GOTTSBERGER et al., 2013).

São diversos os trabalhos que abordam a toxicidade de plantas do gênero *Philodendron*, seja por contato ou ingestão (KNIGHT, 1991; MRVOS; DEAN; KRENZELOK, 1991; LAWRENCE, 1997; OLIVEIRA; GODOY; COSTA, 2003; ANLIKER; HEIJNEN; WÜTHRICH, 2004; PETERSEN, 2011; MADSEN; ANDERSEN; PAULSEN, 2017). Plantas do gênero *Philodendron* acumulam cristais de oxalato de cálcio, como ráfides ou drusas, os quais podem ser os responsáveis por ação irritante (GENUA; HILLSON, 1985; KLIMKO; WAWRZYNSKA; WILAND-SZYMANSKA, 2016; OLIVEIRA; PASIN, 2017). Ponchet et al. (1980) e Knight et al. (1996) atribuem a alquil e arilresorcinois, isolados deste gênero, a responsabilidade pela dermatite alérgica ocasionada por estas plantas. Das nove espécies de *Philodendron* estudadas por Reffstrup e Boll (1985), quatro continham compostos alquil e arilresorcinois, onde foram isolados seis compostos que diferem em

comprimento e grau de insaturações das suas cadeias laterais alifáticas. Reffstrup e Boll (1985) consideram o fato de cinco espécies carecerem de alquilresorcinóis como significativo e sugerem que esses compostos sejam rastreados antes que as espécies de *Philodendron* sejam utilizadas como ornamentais. Segundo Mrvos, Dean e Krenzelok (1991, citado por Silva et al., 2013), a ingestão de plantas pertencentes ao gênero pode ocasionar o desenvolvimento de irritação intensa das membranas mucosas, resultando em inchaço da língua, dos lábios e do palato.

Embora haja grande diversidade de espécies, e diversos estudos que citam usos medicinais de *Philodendron* (FENNER et al., 2006; ESTEVEZ et al., 2007; FEITOSA; BEZERRA, 2007; SUFFREDINI et al., 2007; SAITO; LIMA, 2009; OTTOBELLI et al., 2011; CASTELLAR et al., 2013; FRAUSIN et al., 2015; FERREIRA; TAVARES-MARTINS, 2016; GIOVANNINI; HOWES, 2017) há apenas quinze trabalhos publicados até o momento, que confirmam os usos da sabedoria popular no que diz respeito as ações farmacológicas do gênero. A (TABELA 3) apresenta metabólitos, extratos ou óleo essencial que, após serem submetidos a testes biológicos, demonstraram possuir ação comprovada para algumas enfermidades.

TABELA 3: AÇÕES FARMACOLÓGICAS COMPROVADAS DE SUBSTÂNCIAS ISOLADAS, EXTRATOS OU ÓLEOS ESSENCIAIS OBTIDOS DE PLANTAS DO GÊNERO *Philodendron* – ARACEAE

ESPÉCIE	PARTES DA PLANTA	EXTRATO, ÓLEO ESSENCIAL OU SUBSTÂNCIA ISOLADA	ATIVIDADE	continua REFERÊNCIAS
<i>Philodendron bipinnatifidum</i> Schott	Partes aéreas	Extrato aquoso	Antiprotzoários contra <i>Trypanosoma cruzi</i> Chagas e <i>Trichomonas vaginalis</i> Donné	MUELAS-SERRANO et al., 2000.
	Folhas	Extrato metanólico e Compostos fenólicos e glicosídeos	Citotoxicidade frente a Geração de hepatócitos (HepG2)	EL-DEEB et al., 2012.
	Folhas	Extrato aquoso	Alelopática	AUMONDE et al., 2013; AUMONDE et al., 2015.
	Raiz	Óleo Essencial	Inseticida contra <i>D. speciosa</i>	SANTIAGO et al., 2014.
<i>Philodendron chinensis</i>	N/C	Berberina e limonina	Supressão de IgE (Imunoglobulina E)	YANG et al., 2014.

N/C: não consta

TABELA 3: AÇÕES FARMACOLÓGICAS COMPROVADAS DE SUBSTÂNCIAS ISOLADAS, EXTRATOS OU ÓLEOS ESSENCIAIS OBTIDOS DE PLANTAS DO GÊNERO *Philodendron* – ARACEAE

ESPÉCIE	PARTES DA PLANTA	EXTRATO, ÓLEO ESSENCIAL OU SUBSTÂNCIA ISOLADA	ATIVIDADE	conclusão REFERÊNCIAS
<i>Philodendron deflexum</i> Poepp	Raiz	Óleo Essencial	Larvicida contra <i>Aedes aegypti</i> Linnaeus e <i>Anopheles albirtasis</i> Arribalzaga	ALLIANCE et al., 2017.
<i>Philodendron goeldii</i> G.M. Barroso	Raiz	Óleo Essencial	Antibacteriana contra <i>Corynebacterium glutamicum</i> .	SILVA et al., 2016.
<i>Philodendron megalophyllum</i> Schott	Folhas frescas e pó do cipó	Extrato aquoso	Anti-hemorragica Ação contra o veneno de cobra	MOURA et al., 2015.
<i>Philodendron selloum</i> C. Koch	N/C	Extrato metanólico	Citotoxicidade frente a Geração de hepatócitos 2 (HepG2).	HASSANEIN et al., 2011.
	Folhas	Extrato clorofórmico	Citotoxicidade frente à <i>Artemia salina</i>	GHAREEB et al., 2015.
<i>Philodendron tripartitum</i> (Jacq.) Schott	Folhas e galhos	Extrato etanólico	Anti-hemorragica Ação contra o veneno de cobra	OTERO et al., 2000.

N/C: não consta

Além dos estudos apresentados na (TABELA 3), Trevisan e Macedo (2003) em busca por plantas que pudessem ser utilizadas no tratamento da doença de Alzheimer, identificaram que o extrato metanólico de folhas de *P. imbe*, na concentração de 2,3 mg.mL⁻¹ foi capaz de inibir em 29% a ação da enzima acetilcolinesterase “*in vitro*”.

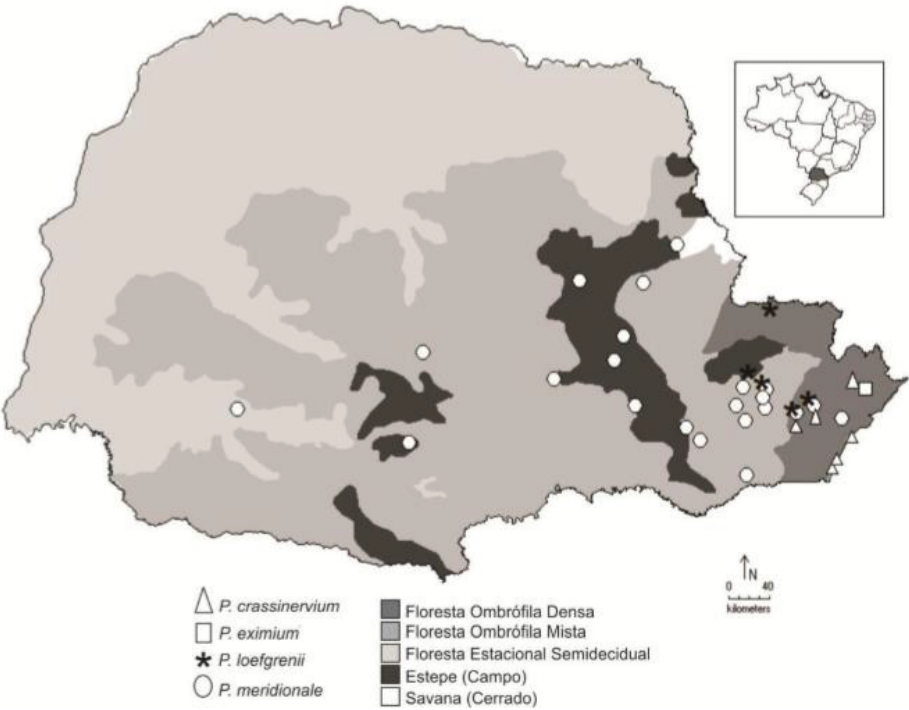
A pequena quantidade de publicações, reflete a necessidade de novos estudos para maior conhecimento da composição química e da aplicabilidade do gênero com fins medicinais.

2.3 *Philodendron meridionale* BUTURI & SAKUR

Philodendron meridionale Buturi & Sakur pertence ao subgênero *Philodendron*, seção *Macrobium* (BUTURI; TEMPONI; SAKURAGUI, 2014). É nativa e endêmica do Brasil, não ameaçada de extinção, encontrada nos estados do Paraná (FIGURA 3) e Santa Catarina, podendo ser encontrada nas Florestas

Estacional Semidecidual, Ombrófila Mista e Ombrófila Densa (BUTURI; TEMPONI; SAKURAGUI, 2016). A espécie é pouco conhecida no estado de Santa Catarina, existindo apenas um registro para o estado (BUTURI; TEMPONI; SAKURAGUI, 2014).

FIGURA 3: DISTRIBUIÇÃO DE ALGUMAS ESPÉCIES DO GÊNERO *PHILODENDRON* NO ESTADO DO PARANÁ



Distribuição de *Philodendron crassinervium* Lindl, *Philodendron eximium* Schott, *Philodendron loefgrenii* Engl e *Philodendron meridionale* Buturi & Sakur no Estado do Paraná.
FONTE: BUTURI; TEMPONI; SAKURAGUI, 2016.

O enquadramento botânico da espécie em estudo, considerando os sistemas de classificação propostos por Buturi & Sakur, é apresentado no (QUADRO 1).

QUADRO 1: ENQUADRAMENTO TAXONÔMICO DE *Philodendron meridionale* BUTURI & SAKUR.

Reino	Plantae
Filo	Magnolioph
Classe	Liliopsida
Ordem	Alismatales
Família	Araceae
Gênero	<i>Philodendron</i>
Espécie	<i>P. meridionale</i>

Caracterizada como sendo uma planta hemiepífita ou terrestre, apresenta caule herbáceo, alongado, verde a cinza; cicatrizes foliares elípticas transversas a ovais transversas, castanhas acinzentadas; com escâmulas intravaginais ausentes. Folha com perfil 15,5-22 cm de comprimento, róseo alvacento; bainha inconspícua, exceto no simpódio floral, pecíolo 20-26x0,25-0,34 cm, verde com máculas vináceas; lâmina 16-31x9,5-15,5 cm, estreitamente-oval a oval, nervuras laterais primárias fracamente impressas 0-3, ápice agudo, base cordada, verde, frequentemente com margem vinácea, cartácea. Flores de agosto a janeiro. Inflorescência 1-2 por simpódio floral; pedúnculo 1,5-3 x 0,3 cm; espata estreitamente elíptica, constrição ausente, reflexa em antese, verde com máculas vináceas externamente e com mancha vinácea na base interna, cartácea; espádice 8-12,7 cm de comprimento, zona masculina estéril apical 3,1-4,5x0,4-0,8 cm; zona estaminada 2,5-4,2x0,6-0,9 cm; zona masculina estéril basal 1-1,5x0,6-0,9 cm de comprimento; zona pistilada 2,2-3,3x0,4-0,9 cm, estípide 0,4-0,7 cm. Estaminódios apicais 1,7-2,2x0,9-1,8 mm, alvos; estames 0,9-1,8x1,0-1,7 mm, alvos; estaminódios basais 1,5-2,5x0,5-1,8 mm, alvos; gineceu 1,1-2,4x0,3-1,6 mm, alvo; (6)8-13locular, placentação basal, 3-4(5) óvulos por lóculo. Bagas não observadas (BUTURI; TEMPONI; SAKURAGUI, 2016).

Há uma grande variedade morfológica na espécie, o que faz com que haja dificuldade no conhecimento do gênero a nível específico (COELHO, 2000). *Philodendron meridionale* é muito semelhante a *P. loefgrenii* da qual difere pela base da folha cordada e presença de nervuras laterais primárias, além de maior número de lóculos, 8-13 em *P. meridionale* e 5 em *P. loefgrenii*. Assemelha-se também à *Philodendron roseopetiolatum* Nadrusz & Mayo, da qual pode ser distinguida por apresentar folhas menores, nervuras laterais primárias menos aparentes e lóculos menos numerosos, 7-9 em *P. roseopetiolatum* e 8-13 em *P. meridionale* (BUTURI; TEMPONI; SAKURAGUI, 2014). Há poucas publicações que descrevem e comparam folhas (KLIMKO; WAWRZYNSKA; WILAND-SZYMANSKA, 2014), hastes (TENORIO; SAKURAGUI; VIEIRA, 2012) e raízes (VIANNA; SOARES; APPEZZATO-DA-GLORIA, 2001) da espécie *Philodendron*. Na (FIGURA 4) *P. meridionale* é apresentada em seu *habitat*.

FIGURA 4: *Philodendron meridionale* EM SEU habitat

Sendo: A. Aspecto geral da *Philodendron meridionale*. B. Detalhe da folha. C. Característica hemiepífita. D. Detalhe do pecíolo, caule e raiz. E. Detalhe da flor.

FONTE: a autora, 2014.

Não há estudos publicados sobre a composição química e efeitos biológicos de *P. meridionale*, sendo esse o primeiro trabalho a ser realizado para essa espécie. Como já relatado, em estudos realizados com outras espécies do mesmo gênero, substâncias com atividade farmacológica têm sido isoladas, o que justifica o interesse na investigação química, morfoanatômica e biológica desta espécie.

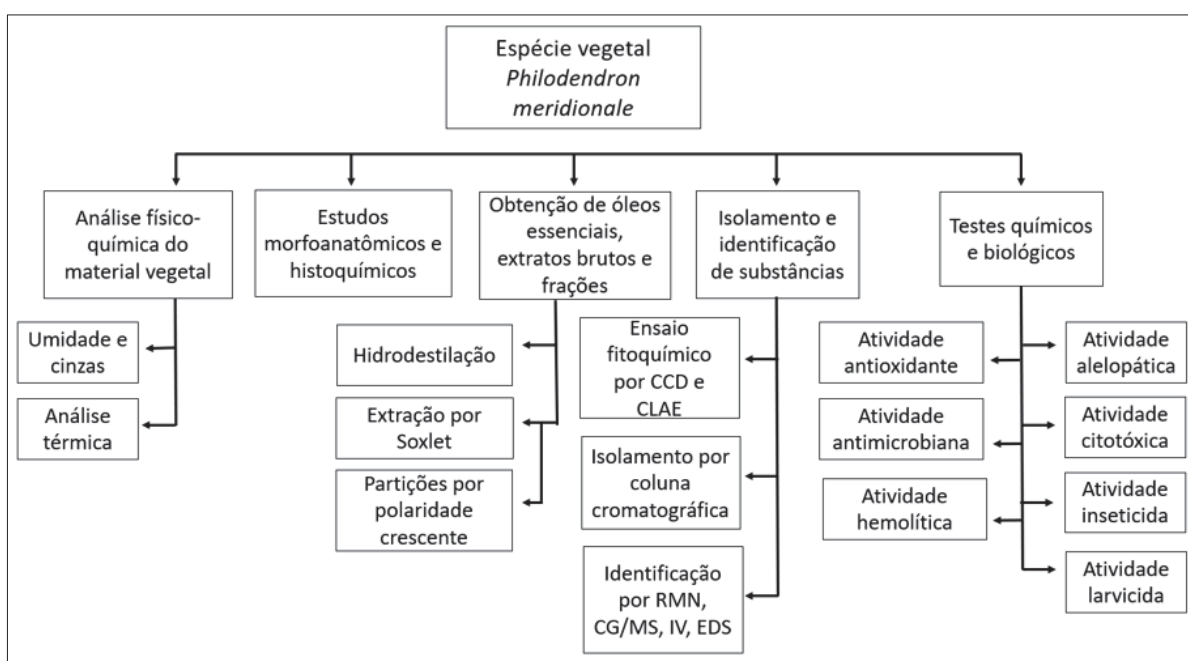
3. MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa compreende 5 diferentes linhas de análise da espécie vegetal *P. meridionale*, dividindo-se em:

- Controle físico-químico do material vegetal;
- Estudos morfoanatômicos e histoquímicos;
- Obtenção do óleo essencial, dos extratos brutos e frações;
- Isolamento e identificação de substâncias;
- Testes biológicos e químicos.

O (QUADRO 2) auxilia na compreensão das técnicas e métodos empregados em cada parte da pesquisa científica realizada com *P. meridionale*.

QUADRO 2: FLUXOGRAMA DA PESQUISA CIENTÍFICA REALIZADA COM *Philodendron meridionale*



FONTE: a autora, 2018.

O projeto foi regularizado de acordo com a resolução nº. 35, de 27 de abril de 2011, do Ministério do Meio Ambiente, que prevê o acesso às atividades do patrimônio genético (ANEXO 1).

3.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL BOTÂNICO

Obteve-se a autorização para coleta de material botânico junto ao Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO), vinculado ao Ministério do Meio Ambiente (MMA) e ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBi), sob número de registro 44970-1 (ANEXO 2).

A coleta do material botânico foi realizada no Capão do Cifloma, Campus Jardim Botânico, no município de Curitiba, estado do Paraná (25°26'58" S, 49°37'12" O – 906 m de altitude). Considerando a categoria na qual a espécie está situada, buscou-se o manejo adequado para que nenhum fator afetasse negativamente a qualidade de desenvolvimento em seu *habitat*.

As folhas e caules de *P. meridionale* foram coletados pela manhã, em 25/06/2014. As exsicatas foram depositadas no Museu Botânico Municipal de Curitiba, sob o número de registro 390207, sendo identificada pela especialista do gênero, Dra. Mônica Cássia Sakuragui.

Após a coleta, folhas e caules foram expostos ao ar para secagem natural e posteriormente foram fragmentados, constituindo massa equivalente a 1950g de folhas e 2240g de caules, para serem utilizados em ensaios químicos e biológicos.

3.2 ENSAIOS DE PUREZA

3.2.1 Determinação da perda de água por dessecação

Para a determinação do teor de água por dessecação, utilizou-se o método gravimétrico descrito na Farmacopeia Brasileira (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010). As análises foram realizadas em triplicatas para todas as amostras previamente dessecadas nas condições anteriormente citadas e os resultados foram expressos em porcentagem de água em relação à droga vegetal.

Foi transferido 1 g da amostra para pesa-filtro tarado, previamente dessecado durante 30 minutos (min). A amostra foi dessecada em estufa (100-105 °C) durante 5 horas (h) até peso constante e posteriormente resfriada em dessecador, sendo verificada a sua massa para cálculo da porcentagem de perda por dessecação.

3.2.2 Determinação de cinzas totais

Pesou-se cerca de 1 g da amostra seca pulverizada, a qual foi transferida para cadinho (de silício) previamente tarado e dessecado durante 30 min. A amostra foi distribuída uniformemente no cadinho e incinerada aumentando, gradativamente, a temperatura até, no máximo, 600 ± 25 °C, até que todo o carvão tenha sido eliminado. O material foi resfriado em dessecador e pesado. As análises foram realizadas em triplicatas e a porcentagem de cinzas totais em relação à substância sob ensaio, foi calculada.

3.2.3 Análise Térmica

O estudo termoanalítico de folhas e de caules de *P. meridionale* foi realizado por termogravimetria (TG) e pela derivada primeira da curva termogravimétrica (DTG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC).

As curvas de TG/DTG foram obtidas no intervalo de temperatura de 20 a 600°C, utilizando termobalança modelo DTG 50 da marca Shimadzu, sob atmosfera dinâmica e fluxo de ar sintético ($150 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$), razão de aquecimento de $15 \text{ }^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, utilizando cadinho de alumínio aberto contendo massa de amostra em torno de 5 mg de folhas e caules secos de *P. meridionale*. A calibração do instrumento foi verificada antes dos ensaios empregando-se um padrão de oxalato de cálcio monoidratado, conforme norma ASTM (The American Society for Testing and Materials) (1983).

Também foram obtidas curvas de TG/DTG e DSC a partir de 10 mg de amostras de folhas e caules secos de *P. meridionale*, aquecidas a uma taxa constante de $10 \text{ }^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, sendo obtidas no intervalo de temperatura entre 20 e 600°C, sob fluxo de nitrogênio ($50 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$), em célula calorimétrica de alumina aberta. O instrumento STA 6000 (PERKIN ELMER, Waltham, MA, Estados Unidos) foi calibrado usando Índio (In; PF: $156,6 \text{ }^{\circ}\text{C}$; $\Delta H_{\text{fusão}}$: $28,54 \text{ J} \cdot \text{g}^{-1}$) como padrão.

3.3 ESTUDO MORFOANATÔMICO

As pesquisas referentes aos caracteres anatômicos foram efetuadas com folhas e caules de *P. meridionale*, a partir de 5 cm do ápice da planta. Para a análise

morfológica e das suas características foi adotado a nomenclatura proposta por Radford et al. (1974). Parte do material botânico utilizado para estudo estrutural foi mantido fresco para a realização de testes microquímicos e a outra parte foi fixado em solução FAA 70 (formol 5%, ácido acético 5% e etanol 70 °GL 90% v/v) (JOHANSEN, 1940) por um período de sete dias, sendo posteriormente estocados em solução de etanol a 70% (v/v) (BERLYN; MIKSCHE, 1976) para a confecção de lâminas semipermanentes e permanentes.

O estudo anatômico de caule e folhas foi feito em secções executadas nos sentidos transversal e longitudinal dos órgãos vegetais, realizadas à mão livre e obtidas em micrótomo de rotação. Com as secções manuais foram montadas lâminas temporárias e lâminas semipermanentes. As secções, após coloração com fucsina básica 0,0125% e azul de Astra 1%, foram montadas entre lâmina e lamínula, em água (lâminas temporárias) ou em glicerina a 50%, e lutadas posteriormente, com esmalte incolor (lâminas semipermanentes). As lâminas permanentes foram confeccionadas com as peças botânicas fixadas, já submetidas à desidratação em série alcoólica etílica, incluídas em glicol-metacrilato (historresina Leica®), conforme orientações especificadas no produto, e seccionadas em micrótomo RM-2145. As secções assim obtidas foram coradas com azul de toluidina (O'BRIEN; FEDER; MCCULL, 1964) com fucsina básica 0,0125% e azul de Astra 1% (ROESER, 1972). O material botânico foi emblocado em parafina, seccionado em micrótomo de rotação e corado em hematoxilina de Erlich e safranina, segundo técnica descrita por Johansen (1940).

Para a realização dos testes microquímicos, os cortes a mão livre do material fresco foram mantidos sem coloração; e foram submetidos aos seguintes reagentes para a confirmação da natureza dos cristais e das substâncias presentes nos ductos e tecidos: ácido sulfúrico 1% para detecção de cristais de oxalato de cálcio (OLIVEIRA; AKISUE, 1989); Sudam III para substâncias lipofílicas (SASS, 1951); lugol para grãos de amido (BERLYN; MIKSCHE, 1976); floroglucina para detectar elementos lignificados (FOSTER, 1949); cloreto férrico (FeCl_3) a 5% para compostos fenólicos (JOHANSEN, 1940). A diafanização de folhas foi realizada seguindo a técnica de Fuchs (1963).

Os resultados foram demonstrados com o auxílio de fotos que foram tiradas com um microscópio óptico Olympus CX 31, associadas à câmera digital C7070.

Estes procedimentos foram realizados nos laboratórios de histologia e de farmacognosia da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG).

A caracterização morfológica das superfícies foliares e caulinares de *P. meridionale* foi realizada com análise em microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para tal procedimento, as amostras foram fixadas em FAA 70, armazenadas em solução de etanol a 70% (v/v) (BERLYN; MIKSCHE, 1976) e posteriormente desidratadas em série etanólica crescente. As eletromicrografias foram realizadas em alto vácuo e visualizadas no microscópio eletrônico de varredura VEGA3 TESCAN, através do procedimento de ponto crítico (Balzers CPD 030), revestido com ouro (Balzers Sputtering SCD 030) (SOUZA, 1998) e analisadas por um microscópio eletrônico de varredura (Jeol JSM 6360 LV), no laboratório multiusuário (C-LABMU/PROPESP), na UEPG.

A espectroscopia de raios-X de energia dispersiva (EDS) foi realizada de forma aleatória em cristais e em células sem cristais (controle), com um raio-X detector. Foi acoplado ao MEV e operado sob as mesmas condições de funcionamento aplicadas para obter as micrografias eletrônicas. Este procedimento foi realizado no laboratório multiusuário (C-LABMU/PROPESP), na UEPG.

3.4 ÓLEO ESSENCIAL

3.4.1 Extração e determinação quantitativa do óleo essencial

A extração do óleo essencial foi realizada por meio de hidrodestilação de material seco, sendo 333,92g de folhas (Extração 1) e 283,47g de caules (Extração 2) de *P. meridionale*, utilizando o aparelho de Clevenger, com duração de 7 h e coberto com material laminado a fim de que o mesmo se mantivesse ao abrigo da luz. Após esse tempo, a quantidade de óleo essencial extraída foi medida em tubo graduado, coletado em tubo tipo “*ependorf*” e mantido ao abrigo da luz, sob refrigeração em temperatura de $4 \pm 0,5$ °C. Calculou-se a porcentagem de óleo essencial existente na massa de 100 g de vegetal.

3.4.2 Identificação dos compostos do óleo essencial

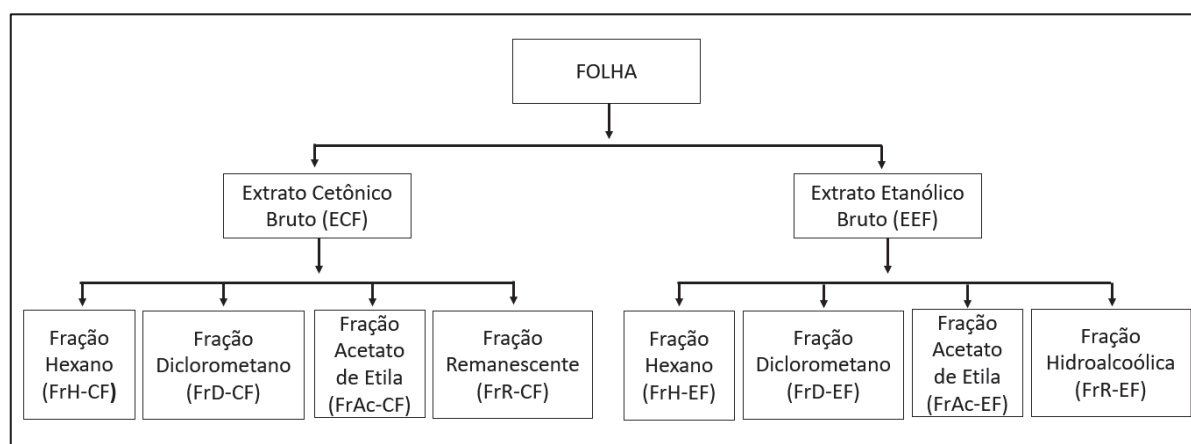
A identificação dos compostos do óleo essencial de *P. meridionale* foi realizada pelo Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná (UFPR). Executou-se a análise cromatográfica em aparelho Shimadzu® modelo GCMS-QP 2010 Plus equipado com coluna capilar Rtx-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm). Injetor em modo splitless a 250 °C, interface e fonte de íons a 300 °C. A janela de massas analisada foi entre m/z 40 e m/z 450, utilizando o gás Hélio como gás de arraste. Rampa de injeção para análise com temperatura do injetor em 250 °C, pressão da coluna de 20 psi, iniciando-se com temperatura de 50 °C por 5 min elevando para 200 °C a uma razão de 5 °C.min⁻¹. Os componentes do óleo essencial foram identificados por comparação com os dados da literatura (ADAMS, 2007) e perfis do espectro de massa das bibliotecas NIST-14.

3.5 EXTRATOS

A divisão didática dos extratos e frações cetônicas e etanólicas obtidas de *P. meridionale*, com as respectivas abreviações que lhe foram atribuídas, são observadas no (QUADRO 3) para folhas e no (QUADRO 4) para caules.

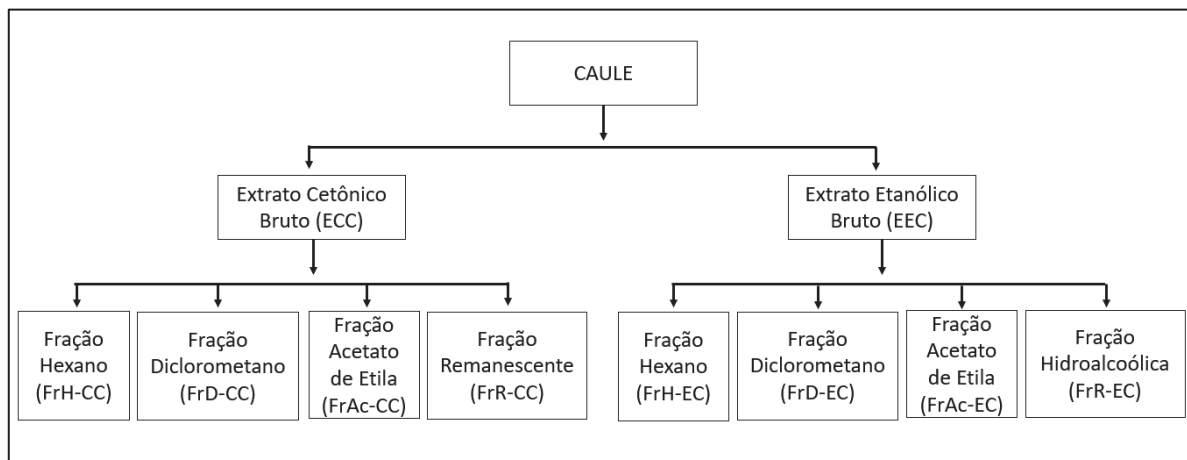
Todos os solventes utilizados foram de grau analítico.

QUADRO 3: DIVISÃO DIDÁTICA DOS EXTRATOS E FRAÇÕES CETÔNICOS E ETANÓLICOS DE FOLHAS DE *Philodendron meridionale*



FONTE: a autora, 2018.

QUADRO 4: DIVISÃO DIDÁTICA DOS EXTRATOS E FRAÇÕES CETÔNICOS E ETANÓLICOS DE CAULES DE *Philodendron meridionale*



FONTE: a autora, 2018.

3.5.1 Obtenção dos extratos cetônicos

Para obtenção dos extratos cetônicos, 1590 g de folhas e 1900 g de caules de *P. meridionale*, secos e moídos (moinhos de facas e martelos) foram submetidos à extração, separadamente, em aparelho de Soxhlet modificado (60 °C) (PI 0601703-7A) (CARVALHO et al., 2006) (FIGURA 5), utilizando-se propanona (acetona) como líquido extrator.

FIGURA 5: OBTENÇÃO DO EXTRATO CETÔNICO BRUTO EM APARELHO DE SOXHLET MODIFICADO



FONTE: a autora, 2014.

Os extratos cetônicos brutos de folhas (ECF) e de caules (ECC) foram filtrados utilizando-se funil de Büchner e concentrados até 30% do seu volume.

Posteriormente foram particionados com solventes de polaridade crescente, em Soxhlet modificado, obtendo-se as frações: hexano (FrH-CF e FrH-CC), diclorometano (DCM) (FrD-CF e FrD-CC) e acetato de etila (AcEt) (FrAc-CF e FrAc-CC) de folhas e de caules (separadamente e respectivamente). Os resíduos dos extratos de folhas e caules constituem as frações remanescentes (FrR-CF e FrR-CC). As frações foram concentradas em rota vapor e acondicionadas em frasco âmbar, rotuladas e mantidas sob refrigeração.

3.5.2 Obtenção dos extratos etanólicos

Para obtenção dos extratos etanólicos brutos de folhas (EEF) e de caules (EEC), utilizou-se os resíduos advindos de 1590 g de folha e de 1900 g de caule, que foram submetidos à extração cetônica (separadamente) e posteriormente acrescidos com etanol 99,9%, em aparelho de Soxhlet modificado (CARVALHO et al., 2006).

Os extratos foram filtrados utilizando-se funil de Büchner e concentrados até 30% do seu volume. Posteriormente foram particionados com solventes de polaridade crescente, em Soxhlet modificado, obtendo-se as frações: hexano (FrH-EF e FrH-EC), DCM (FrD-EF e FrD-EC) e AcEt (FrAc-EF e FrAc-EC) de folhas e caules (separadamente e respectivamente). Os resíduos dos extratos de folhas e caules constituem as frações remanescentes (FrR-EF e FrR-EC). As frações foram concentradas em rota vapor e acondicionadas em frasco âmbar, rotuladas e mantidas sob refrigeração.

3.5.3 Isolamento e caracterização das substâncias

3.5.3.1 Screening fitoquímico por cromatografia em camada delgada (CCD)

Para realização da identificação dos grupos de metabólitos secundários por cromatografia em camada delgada (CCD), foram utilizados os extratos e frações.

A fase móvel foi colocada no fundo da cuba cromatográfica, e a mesma foi fechada por tempo suficiente para a saturação da atmosfera interior, auxiliando na migração das substâncias através da camada delgada. Para as análises em CCD,

foram utilizadas cromatoplasmas de sílica (Sílica-gel 60 F254 Merck® 0,063–0,200 mm), cortadas com 3 cm de largura por 5 cm de comprimento. As amostras foram aplicadas com capilar de modo que os pontos de aplicação ficassem concentrados em uma pequena área. Após a eluição da fase móvel pela cromatoplasma e a secagem do solvente, foram utilizados reveladores específicos para cada grupo de metabólitos secundários em análise (TABELA 4).

TABELA 4: CONSTITUIÇÃO DA FASE MÓVEL, DO REVELADOR E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS PARA CCD

	FASE MÓVEL	REVELADORES ESPECÍFICOS	EVIDÊNCIAS	REFERÊNCIAS
Esteroides/ Terpenos	Tolueno/ AcEt (93:7)	Anisaldeído Sulfúrico: - Anisaldeído - 0,5 mL - - ácido acético glacial - 10 mL - metanol - 85 mL - ácido sulfúrico - 5 mL	Coloração rosa/violácea após aquecimento em estufa 105 °C.	CARVALHO, 2001.
Alcaloides	Clorofórmio / Metanol (95:5) Universo de amônio em tubo de ensaio	Dragendorff: - Carbonato de bismuto – 5 g - Iodeto de potássio – 25 g - Ácido clorídrico concentrado – 12 ml Água destilada qsp. 100 ml	Coloração alaranjado forte na presença de alcaloides	OLIVEIRA et al., 2014.
Flavonoides	AcEt / Ácido fórmico/ Ácido Acético glacial/ Água destilada (100:11:11:26)	NEU - Difenol boril oxi etil amino – 1 g - Metanol – 100 ml	Desenvolviment o de coloração amarela em luz UV.	CARVALHO, 2001.
Cumarinas	DCM/ Acetona (10:10)	Hidróxido de potássio 1% Hidróxido de potássio – 1 g Etanol qsp 100 ml	Coloração azul ou verde quando expostas a luz UV.	AMARAL et al., 2009.
Taninos	AcEt / Ácido fórmico/ Ácido Acético glacial/ Água destilada (100:11:11:26)	Cloreto Férrico 2% Cloreto férrico – 2 g Metanol ou água qsp 100 ml	Coloração verde para taninos condensados. Coloração azul para taninos hidrolisáveis. Coloração marrom para compostos fenólicos.	OLIVEIRA et al., 2014.
Antraquinonas	AcEt / Metanol/ Água destilada (100:17:13)	Hidróxido de potássio 5% Hidróxido de potássio – 5 g Etanol qsp 100 ml	Coloração vermelha	WAGNER; BLADT; ZGAINSKI, 1996

qsp: quantidade suficiente para

FONTE: Adaptado de OLIVEIRA, 2016.

Os solventes utilizados nas eluições cromatográficas apresentaram caráter analítico e foram combinados em gradiente crescente de polaridade conforme a fração vegetal a ser explorada e o metabólito secundário a ser pesquisado.

As placas foram visualizadas sob luz ultravioleta (254 e 365 nm), antes da revelação com os reagentes, verificando a fluorescência dos pontos na CCD. Nas técnicas para flavonoides e cumarinas, as placas também foram visualizadas no ultravioleta, analisando a mudança da coloração após a utilização do revelador.

3.5.3.2 Screening fitoquímico por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Os extratos brutos de *P. meridionale* foram diluídos em metanol (MeOH) a uma concentração de 20 mg.mL⁻¹ e submetidos à análise por CLAE Merck Hitachi – Elite Lachrom, com detector diodo (DAD) em 284 nm, coluna XTerra® RP18 5 µm, 4,6x250 mm, volume de injeção de 20 µL, fluxo 1,0 mL.min⁻¹. Como fase móvel foi utilizado gradiente de concentração o sistema H₂O:H₃PO₄ a 0,1% (A) e MeOH (B) na seguinte programação: 1-45 min, iniciando com 10% de fase B e finalizando em 45 min com 100% de fase B (OLIVEIRA, 2016). O MeOH utilizado foi grau CLAE (TEDIA) e a água MilliQ.

3.5.3.3 Pesquisa de Heterosídeos Saponínicos

Para esse teste foram utilizados 0,02g de extratos brutos de folhas e caules (ECF, EEF, ECC e EEC) adicionados a tubos de ensaio com 5 mL de água, em triplicata. Foi empregado o teste de formação e persistência de espuma estável (REGINATTO, 2000). Os tubos foram agitados energeticamente por 5 min medindo em seguida o anel de espuma formado. Após repouso de 30 min, a presença de saponinas é confirmada pela formação de espuma persistente com altura superior a 1 cm.

3.5.3.4 Determinação de fenólicos totais e flavonoides

As técnicas de doseamentos de fenólicos totais se baseiam em técnicas espectrofotométricas juntamente com um padrão, onde através da curva de calibração, é possível calcular a concentração destes metabólitos. Esses

procedimentos foram realizados com os extratos brutos (ECF, EEF, ECC e EEC) e com as frações FrAc-CC E FrAc-EC.

Para a determinação de fenólicos totais, as amostras foram diluídas em MeOH ($1000 \mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$), adicionadas aos tubos de ensaio e completado o volume para 3,4 mL com água destilada. Após total solubilização foi adicionado 0,2 mL de reativo de Folin-Ciocalteu, homogeneizado e adicionado 0,4 mL de carbonato de sódio a 10%, sendo posteriormente agitado e depois mantido por 30 min em repouso a temperatura ambiente (SLINKARD; SINGLETON, 1977). Posteriormente, foram realizadas as leituras em espectrofotômetro à 760 nm utilizando curva de calibração de ácido gálico como padrão, nas concentrações de 2,5; 5; 7,5; 10; 12,5; 15; 17,5 e $20 \mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$. As análises foram realizadas em triplicata. Os teores de fenólicos totais foram determinados em mg equivalente a ácido gálico por grama de extrato bruto e/ou frações, utilizando a seguinte equação com base na curva de calibração: $y = 0,0392x - 0,057$. $R^2 = 0,9967$

Para o doseamento de flavonoides totais, as amostras foram diluídas em MeOH ($1000 \mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$) e a elas foram adicionados cloreto de alumínio (AlCl_3) 2%, qsp 2 mL. Após 60 min foram realizadas as leituras em espectrofotômetro à 420 nm utilizando curva de calibração de quercetina como padrão, nas concentrações de 5; 10; 15; 20; 25 e $30 \mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$. As análises foram realizadas em triplicata (CHANG et al., 2002). Os teores de flavonoides totais foram determinados em mg equivalente de quercetina por grama de extrato bruto e/ou frações, utilizando a seguinte equação, com base na curva de calibração: $y = 0,0313x - 0,016$. $R^2 = 0,9997$.

3.5.3.5 Isolamento por coluna cromatográfica aberta (CC) e identificação de substâncias

A purificação foi realizada por meio de colunas cromatográficas (CC) por adsorção, empacotadas com fase estacionária em sílica gel (60 Merck 0,063 – 0,200mm). A fase móvel utilizada foi específica para cada fração selecionada.

As amostras, advindas das CC, foram coletadas em frascos de 10mL e levadas à secar em temperatura ambiente para cristalização dos compostos, onde posteriormente, foi avaliada a presença de substâncias isoladas e/ou misturas. Essas substâncias foram identificadas por espectroscopia de ressonância nuclear magnética de carbono treze (RMN ^{13}C) e de hidrogênio (RMN ^1H), espectroscopia de

absorção na região do infravermelho (IV) e cromatografia gasosa acoplada ao espectro de massas (CG-MS).

As análises espectroscópicas de ressonância magnética (RMN) de ^{13}C e ^1H , foram realizadas no Laboratório de RMN do Departamento de Química da UFPR, com a utilização de espectrofotômetro Brucker® Avance III operando em 9,4 T, observando os núcleos de hidrogênio e carbono à 400 MHz e 100 MHz, respectivamente. O espectrômetro está equipado com sonda 5 mm de detecção inversa com gradiente de campo no eixo Z. Os experimentos de correlação direta (^1H - ^{13}C HSQC) e a longa distância (^1H - ^{13}C HMBC) foram otimizados por uma constante de acoplamento média de 140 e 8 Hz, respectivamente. Os deslocamentos químicos para os espectros de ^1H e ^{13}C foram referenciados com base no padrão de referência interna tetrametilsilano (TMS) em 0,0 ppm e as constantes de acoplamentos (J) mensuradas em Hz.

As análises de CG-MS das amostras de frações (FrH-CF) obtidas da CC, foram realizadas pela Central Analítica do Instituto de Química da Universidade de São Paulo (CA-USP), usando um injetor Split na temperatura de 220°C, sendo da coluna 60°C, com rampa de aquecimento de 3 °C.min⁻¹, temperatura inicial 15 °C e final 200 °C, e temperatura do detector 250 °C. O hélio foi usado como gás de arraste a 1 mL.min⁻¹. O sistema de ionização de elétrons CG-MS foi de 70 eV.

Nas análises espectroscópicas de absorção na região do infravermelho (IV) foram utilizadas pastilhas em KBr, para determinação das frequências de vibrações em ligações atômicas, com o aparelho Shimadzu IR Prestige 21, no laboratório multiusuário (C-LABMU/PROPESP), na UEPG.

3.5.3.5.1 Extrato Cetônico da Folha (ECF) – fração (FrH-CF)

Para isolamento das substâncias foram utilizados 44,7g de (FrH-CF), preparados como pastilhas com sílica gel 60 na proporção de 5 partes em relação à quantidade de amostra solubilizada em hexano, e posteriormente levada à secar em banho-maria a 50 °C. A fração (FrH-CF) foi submetida a CC com fase estacionária sílica gel 60 Merck 0,063 – 0,200 mm e eluída com a mistura de solventes hexano/ AcEt / MeOH. A fase móvel iniciou com 100% de hexano, tendo AcEt como gradiente de polaridade, com variação de 10%, até 100% de AcEt. Iniciou-se um novo gradiente de polaridade com MeOH, com variação de 10%, até

100% de MeOH. O eluido foi coletado em frascos com aproximadamente 15 mL, totalizando 158 frascos. Após a evaporação do solvente, as frações que apresentaram similaridades comprovadas através de CCD, foram reunidas e originaram subfrações. As subfrações foram purificadas com hexano e depois propanona para limpeza de óleos, pigmentos e impurezas. As subfrações de interesse foram nomeadas como **H-1** e **H-2** e foram encaminhadas para análises (**H-1**: IV, RMN, CG-MS/ **H-2**: CG-MS).

As misturas obtidas nos frascos 4 a 12 da CC, foram selecionadas para realização de coluna de purificação, onde foram preparadas pastilhas com sílica gel 60 na proporção de 5 partes em relação à quantidade de amostra solubilizada em hexano, e posteriormente levada à secar em banho-maria a 50°C. Como fase estacionária foi utilizada sílica gel 60 Merck 0,063 – 0,200 mm e eluída com a mistura de solventes hexano/ AcEt / MeOH. A fase móvel iniciou com 100% de hexano, tendo AcEt como gradiente de polaridade, com variação de 5%, até 100% de AcEt. Iniciou-se um novo gradiente de polaridade com MeOH, com variação de 10%, até 100% de MeOH. O eluido foi coletado em frascos com aproximadamente 15 mL, totalizando 64 frascos.

Após a evaporação do solvente, as subfrações que apresentaram uma precipitação de cristais no fundo do frasco com melhor rendimento, foram submetidas a análise por CCD e reunidas, originando novas subfrações que posteriormente, foram encaminhadas para análises (**H-3/ H-4/ H-5/ H-6**: CG-MS).

3.6 TESTES QUÍMICOS E BIOLÓGICOS

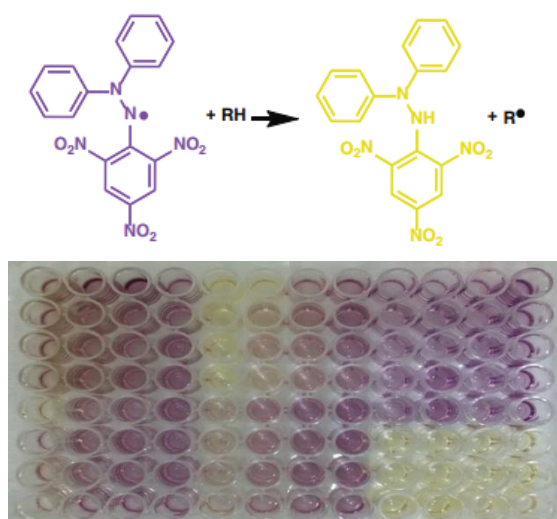
3.6.1 Atividade antioxidante

3.6.1.1 Avaliação da atividade antioxidante pelo método do 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH^{*})

Para avaliação da atividade antioxidante dos extratos brutos (ECF, EEF, ECC e EEC) e das frações (FrH-CC, FrD-CC, FrAc-CC, FrR-CC, FrH-EC, FrD-EC, FrAc-EC, FrR-EC) de *P. meridionale* foi utilizado o método do 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH^{*}) cuja fórmula molecular é C₁₈H₁₂N₅O₆, segundo Silva, Borges e Ferreira (1999).

O DPPH• é um cromóforo muito estável, cuja solução possui uma coloração violeta, com absorção máxima no comprimento de onda de 517 nm (BLOIS, 1958). Na medida em que o radical livre (DPPH•) vai sendo reduzido por uma substância antioxidante, ocorre o emparelhamento de seu elétron e a absorvidade nesse comprimento de onda reduz (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995), observa-se mudança da coloração da solução original de violeta intensa para amarela (FIGURA 6), proporcional à concentração da substância com potencial antioxidante presente, em conformidade com as Leis de Lambert e Beer (BLOIS, 1958).

FIGURA 6: REAÇÃO DE REDUÇÃO DO DPPH• E ASPECTO NA MICROPLACA



Microplaca do ensaio com *P. meridionale*.
FONTE: Adaptado de BEHRENDORFF et al., 2013.

Os extratos e frações foram dissolvidos em MeOH, em concentrações variando de 1 a 0,0625 mg.mL⁻¹. A cada 20 µL de solução diluída de extrato, foi adicionado 100 µL da solução de DPPH• (Calbiochem®) a 0,1 mmol.L⁻¹. Para o controle negativo, foi utilizado 20 µL de MeOH e 100 µL da solução de DPPH• e como controle positivo utilizou-se 20 µL de diluições das soluções padrões (Rutina e Ácido Ascórbico) com concentrações variando de 1 a 0,0625 mg.mL⁻¹. Como branco utilizou-se MeOH. As amostras foram armazenadas ao abrigo da luz. As análises foram realizadas em triplicatas e as leituras foram efetuadas ao tempo de 30 min, em espectrofotômetro UV/Vis SHIMADZU-1601.

A porcentagem da atividade antioxidante (AA%) das amostras testadas foi obtida com os valores de absorbância (Abs) em espectrofotômetro a 517 nm por:

$$AA\% = \left(\frac{Abs_A - Abs_B}{Abs_C} \right) \times 100 \quad (1)$$

Sendo: Abs_A – absorbância da amostra; Abs_B – absorbância do branco da amostra; Abs_C – absorbância do controle positivo

A concentração inibitória média (IC₅₀) foi determinada por regressão linear e corresponde a média de cinco repetições ± desvio padrão. (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999). O valor de IC₅₀ corresponde à quantidade necessária de substância antioxidante para reduzir em 50% a concentração inicial da solução de DPPH[•].

3.6.1.2 Avaliação da atividade antioxidante com espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS)

A dosagem das substâncias reativas com ácido tiobarbitúrico (TBARS) reflete a quantidade de malondialdeído (MDA) formado na degradação de lipídios promovida pela peroxidação. O teste foi realizado segundo Moraes et al. (2006), com modificações.

Em um tubo de ensaio foi adicionado 0,1 mL de uma solução das amostras (ECF, EEF, ECC e EEC e FrH-CC, FrD-CC, FrAc-CC, FrR-CC, FrH-EC, FrD-EC, FrAc-EC, FrR-EC) na concentração de 0,3% em etanol, 0,4 mL de água (H₂O), 0,5 mL de solução de gema de ovo 5% (p/v) previamente preparada em solução de SDS 0,55% (dodecil sulfato de sódio), 50 µL de ABAP 0,035% (cloreto de 2,2'-azo-bis-2-amidinopropano), 1,5 mL de ácido acético 20% (pH 3,5) e 1,5 mL de TBARS 0,4% também preparada em solução de SDS 0,55%. Os tubos foram levados a banho-maria a 95 °C por 1 h. Após o resfriamento da solução, adicionou-se 1,5 mL de 1-butanol, para extração da fase orgânica. Os tubos foram centrifugados a 3000 rpm por 5 min. Em seguida, foi realizada a leitura do sobrenadante em espectrofotômetro UV/Vis SHIMADZU-1601 a 532 nm. Como branco foi utilizado o 1-butanol. Como controle negativo, foi utilizada a mesma solução, sendo a amostra substituída por 0,1 mL de etanol. Como controle positivo, foi utilizada a mesma solução, sendo a amostra substituída por 0,1 mL de hidroxitolueno butilado (BHT) 0,3% em etanol. O

teste foi realizado em triplicata. Foi determinada a atividade antioxidante das amostras em percentual (AA%), por:

$$AA\% = \left(1 - \left(\frac{Abs_A - Abs_B}{Abs_C} \right) \right) \times 100 \quad (2)$$

Sendo: Abs_A – absorbância da amostra; Abs_B – absorbância do branco da amostra; Abs_C – absorbância do controle.

3.6.1.3 Avaliação da atividade antioxidante pelo ensaio da redução do complexo fosfomolibdênio

O método de redução do complexo fosfomolibdênico para a determinação da capacidade antioxidante total (PRIETO; PINEDA; AGUILAR, 1999), é baseado na redução do molibdênio VI a V pela amostra em análise. Essa redução possibilita a formação de um complexo verde entre fosfato e molibdênio (V), em pH ácido, determinado espectrofotometricamente a 695 nm.

Uma alíquota de 300 μL de solução etanólica a 200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ dos extratos brutos (ECF, EEF, ECC e EEC) e das frações (FrH-CC, FrD-CC, FrAc-CC, FrR-CC, FrH-EC, FrD-EC, FrAc-EC, FrR-EC) de *P. meridionale*, foi acrescentada a tubos de ensaio, juntamente com 3 mL do reativo (molibdato de amônio a 4 mmol.L^{-1} , fosfato de sódio 28 mmol.L^{-1} , ácido sulfúrico 0,6 mol.L^{-1}). Os tubos foram fechados hermeticamente e levados ao banho-maria a 95 °C por 90 min.

Os tubos foram resfriados e as leituras foram efetuadas em espectrofotômetro UV/Vis SHIMADZU-1601 a 695 nm contra um branco (300 μL de etanol, acrescidos de 3 mL do reativo). Os padrões utilizados foram o ácido ascórbico e o ácido gálico a 200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, e a análise foi realizada em triplicata. Para efeitos de cálculo da atividade antioxidante (AA%), o ácido ascórbico e ácido gálico foram considerados como 100% de atividade antioxidante e calculados por:

$$AA\% \text{ Ác. Ascórbico} = \left(\frac{Abs_A - Abs_B}{Abs_{\text{Ác. Ascórbico}} - Abs_{\text{B. Ác. Ascórbico}}} \right) \times 100 \quad (3)$$

Sendo: Abs_A – absorbância da amostra; Abs_B – absorbância do branco da amostra; $Abs_{\text{Ác. Ascórbico}}$ – absorbância do controle ácido ascórbico, $Abs_{\text{B. Ác. Ascórbico}}$ – absorbância do branco do controle.

(4)

$$AA\% \text{ Ác. Gálico} = \left(\frac{Abs_A - Abs_B}{Abs_{\text{Ác. Gálico}} - Abs_{B,\text{Ác}}} \right) \times 100$$

Sendo: Abs_A – absorbância da amostra; Abs_B – absorbância do branco da amostra; Abs_{Ác. Gálico} – absorbância do controle ácido gálico; Abs_{B,Ác} – absorbância do branco do controle.

3.6.2 Atividade Hemolítica

A atividade hemolítica foi realizada conforme Aslam et al. (2012). Para a obtenção da solução de hemácias foi preparada uma suspensão de sangue de carneiro desfibrinado (Newprov®) a 2,5%, em tampão fosfato pH 7,4, 5 mL da solução de hemácias foram transferidos para um tubo de ensaio e centrifugado por 5 min. a 3000 rpm. O sobrenadante foi desprezado e as hemácias foram lavadas com PBS (phosphate buffered saline, Serva Electrophoresis®) gelado (4 °C). O processo de centrifugação e lavagem das hemácias foi repetido até que o sobrenadante se apresentasse incolor.

Os extratos foram diluídos em PBS em diferentes concentrações (75 – 1000 µg.mL⁻¹). Como controle positivo foi utilizado Triton a 0,1% e saponinas, e como controle negativo rutina e BHT. O teste de hemólise foi realizado em quintuplicata, incubando-se a amostra com a solução de hemácias em estufa com temperatura controlada de 37 °C ±0,5, por 30 minutos e posteriormente realizou-se banho de gelo por 5 min. O material foi centrifugado por 5 min. a 3000 rpm. As amostras foram diluídas a 10% em PBS para possível leitura em espectrofotômetro UV/Vis SHIMADZU-1601 a 576 nm. A porcentagem de hemólise (A%) em relação ao controle, foi calculada de acordo com Rasool et al. (2015), por:

(5)

$$A\% = \left(\frac{Abs_A - Abs_B}{Abs_C - Abs_B} \right) \times 100$$

Sendo: Abs_A – absorbância da amostra; Abs_B – absorbância do branco; Abs_C – absorbância do controle.

3.6.3 Atividade antimicrobiana

A avaliação antimicrobiana foi conduzida com os micro-organismos: *Candida albicans* (ATCC 10231), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus*

(ATCC 25923). Cada inóculo microbiano foi preparado em soro fisiológico, padronizado pelo tubo 0,5 da Escala McFarland, em espectrofotômetro a 580 nm, o qual corresponde a aproximadamente $1,0 \times 10^8$ UFC.mL⁻¹. Os bioensaios foram realizados em Ágar Mueller-Hinton (MHA) na concentração 22 g.L⁻¹ para bactérias e Ágar Mueller-Hinton na concentração 22 g.L⁻¹ + glicose 1% (MHAG) para fungos.

3.6.3.1 Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A ação antibacteriana foi avaliada pelo método da microdiluição em caldo conforme preconizado pelo *The National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS, 2003). Prepararam-se soluções dos extratos brutos (ECF, EEF, ECC e EEC) com uma diluição prévia em clorofórmio, e soluções dos óleos essenciais de caules e de folhas de *P. meridionale*, solubilizados em Tween® 80 a 10%. Extratos e óleos essenciais foram posteriormente diluídos em MHA ou MHAG, correspondendo ao micro-organismo a ser utilizado, de modo que a concentração final ficou 2000 µg.mL⁻¹.

Foram realizadas diluições seriadas resultando nas concentrações de 1000, 500 e 250 µg.mL⁻¹. Posteriormente transferiu-se 200 µL de cada diluição para poços das microplacas e o inóculo com os micro-organismos (0,5 na escala McFarland). Foram reservados poços nas microplacas para controle de esterilidade do caldo, de crescimento bacteriano, controle negativo do solvente (clorofórmio) e da ação do antimicrobiano de referência, Gluconato de Clorhexidina a 0,12%. As microplacas foram incubadas em condições de aerobiose de 18-24 h a 35 °C. Para leitura dos resultados adicionou-se 50 µL de cloridrato de trifênil tetrazólio (CTT) (0,03% em MeOH) a cada poço, onde a mudança de coloração reflete o metabolismo bacteriano ativo. Os ensaios foram realizados em triplicatas e repetidos.

3.6.3.2 Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Para a determinação da CBM, alíquotas de cada um dos poços das microplacas utilizadas em CIM, contendo os extratos brutos (ECF, EEF, ECC e EEC) /óleo essencial e micro-organismos foram replicadas em placas de Petri contendo MHA ou MHAG. As placas foram incubadas por 24 h a 37 °C. Os ensaios foram realizados em triplicata. Segundo Stuart-Walker (1998), o surgimento de colônia

bacteriana para uma determinada concentração indica que esta não foi capaz de matar 99,9% ou mais do inóculo bacteriano utilizado

3.6.4 Atividade citotóxica sobre células tumorais

3.6.4.1 Cultura celular

As diferentes linhagens celulares utilizadas neste trabalho (HeLa, Jurkat, Calu-3 e HRT) foram adquiridas por meio do Banco de Células do Rio de Janeiro (BC-RJ). As células foram cultivadas em meio RPMI 1640® (criado por Roswell Park Memorial Institute) (MURPHY, 1991), em pH 7,4, o que constitui uma mistura de sais enriquecidos com aminoácidos, vitaminas e outros componentes essenciais para o crescimento celular, contendo soro fetal bovino (SFB) a 10%, suplementado com bicarbonato de sódio (24 mmol.L^{-1}), com penicilina (10.000 U) e com estreptomicina (10 mg.L^{-1}), sendo mantidas em estufa umidificada a 37°C com atmosfera de gás carbônico (CO_2) a 5%.

3.6.4.2 Ensaio da viabilidade celular pelo método de redução do MTT (3-(4,5 dimetiltiazol-2yl)-2-5-difenil-2H tetrazolato de bromo).

O MTT é um composto amarelo que sofre redução por desidrogenases mitocondriais das células metabolicamente ativas, formando um produto chamado formazan (MOSMANN, 1983). O formazan se acumula dentro das células em forma de cristais azuis, que são solubilizados pela adição de álcoois. Assim, quanto maior a viabilidade celular, maior será a redução do MTT e desta forma, maior a absorbância espectrofotométrica (DENIZOT; LANG, 1986; CARMICHAEL et al., 1987).

Os extratos (ECF, EEF, ECC e EEC) foram preparados na concentração de 100 mg.mL^{-1} solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO), e em meio RPMI com 10% de SFB, como solução estoque. Posteriormente, foram diluídos em meio RPMI com 10% de SFB, nas diferentes concentrações empregadas no experimento, 5, 10, 50, 100 e $200 \text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$, de modo que, a concentração de DMSO não tenha ultrapassado 0,3% em cultivo. Como controle negativo foi utilizado o meio de cultura sem a adição de extratos.

As células que se desenvolvem aderidas foram semeadas em placas de 96 poços, na concentração de 1×10^4 células/poço (HeLa e HRT) e de 2×10^4 células/poço (Calu-3). As células cultivadas em suspensão (Jurkat) foram semeadas em placas de 96 poços, na concentração de $1,5 \times 10^4$ células por poço. A viabilidade das células excedeu 95%, como determinado pelo azul de tripan (0,5% de solução de azul, Sigma tripano). Todas as linhagens estudadas, após cultivadas foram tratadas com os extratos brutos (ECF, EEF, ECC e EEC) de *P. meridionale* pelo período de 72 h, sendo a viabilidade celular determinada pela redução do reagente MTT.

Após o período de cultivo, para as culturas em suspensão (Jurkat), as células foram transferidas para tubos de 2 mL e centrifugadas a 1500 rpm por 5 min. O sobrenadante foi desprezado e adicionados 200 µL de uma mistura 1:10 de MTT em meio RPMI com 10% de SFB em cada tubo. As células foram deixadas na estufa por 30 min e centrifugadas novamente a 2500 rpm por 5 min. O sobrenadante foi desprezado e 200 µL de DMSO foram adicionados ao precipitado formado de cor púrpura (formazan), resultado da redução do MTT, solubilizado-o. A cor do sobrenadante foi medida em espectrofotômetro UV/Vis SHIMADZU-1601 a 550 nm.

Para as culturas de crescimento em adesão (Calu-3, HRT e HeLa) após o período de cultivo, o meio de cultivo foi retirado com auxílio de uma pipeta, e foi adicionado 200 µL da solução do MTT 1:10 em cada poço. As culturas foram incubadas à 37 °C por 2 h. Na sequência foi retirado o meio contendo o MTT com a pipeta e foi adicionado 200 µL de DMSO e homogeneizado. A leitura foi realizada em espectrofotômetro UV/Vis SHIMADZU-1601 a 550 nm e as absorbâncias foram utilizadas para o cálculo da porcentagem de viabilidade celular em:

(6)

$$Viabilidade(\%) = \left(\frac{Abs_T}{Abs_C} \right) \times 100$$

Sendo: Abs_T – absorbância do tratado; Abs_C – absorbância do controle.

Com os resultados de viabilidade celular obtidos em triplicata, foram calculadas as concentrações dos extratos que induziram a morte celular de 50% das células (IC₅₀). O cálculo foi realizado por meio do programa GraphPad Prism, sendo expressos como a média ± erro padrão da média, e comparados entre si utilizando o teste de variância (ANOVA) com nível de significância de 95% e pós-teste de Tukey.

O mesmo protocolo utilizado para determinar a viabilidade celular em suspensão (Jurkat) foi utilizado ao se testar os óleos essenciais de folhas e de caules de *P. meridionale*. Para as análises com os óleos essenciais, uma solução estoque (10 mg.mL⁻¹) foi preparada em propilenoglicol e álcool etílico (1:4) (VIRADOR et al., 1998) como procedimento de solubilização. A solução estoque do óleo essencial de *P. meridionale* foi diluída em meio de cultivo RPMI 1640 com 10% de dodecil sulfato de sódio (50, 100, 200 e 400 µg.mL⁻¹) pelo período de 72 h. As células cultivadas em suspensão (Jurkat) foram semeadas em placas de 96 poços, na concentração de 1,5x10⁴ células por poço. O meio de cultura foi utilizado como controle negativo.

3.6.4.3 Análise morfológica das células calu-3 por ação do extrato ECC.

A análise de morfologia foi realizada através da coloração celular com alaranjado de acridina (AO - 100 µg/0,5 mL) e brometo de etídio (BE - 100 µg/0,5 mL) em solução de proporção 1:1 (NAGAMINE, 2005). As células Calu-3 foram semeadas em placas de 24 poços, sobre lâmina estéril, na concentração de 1x10⁵ células.mL⁻¹. O tratamento foi realizado por 24 h após a adição do extrato (ECC) na concentração de 200 µg.mL⁻¹. Retirou-se o meio de cultura e as células foram lavadas com 1 mL de PBS. O PBS foi retirado e adicionou-se 25 µL de PBS e 2µL de solução de corantes preparada previamente. A coloração foi visualizada em microscópio óptico de fluorescência (Olympus, BX41) acoplado à câmera fotográfica (Olympus, DP71), com excitação de 480 nm e emissão de 535 nm.

3.6.4.4 Análise do ciclo celular de calu-3 por ação do extrato ECC

A análise do ciclo celular foi realizada por meio de uma técnica descrita por Crissman e Steinkamp (1973) e Krishan (1975) com modificações. As células foram semeadas em placas de 24 poços, na concentração de 5x10⁴ células.mL⁻¹, e tratadas por 24 h com o extrato (ECC) na concentração de 200 µg.mL⁻¹. Após o tempo de incubação, retirou-se o meio de cultura, e cada poço foi lavado com 500 µL de PBS. Adicionou-se 200 µL de tripsina e as placas foram mantidas em estufa a 37 °C por 10-15 min, até que as células estivessem completamente soltas. A tripsina foi neutralizada com 600 µL de meio de cultura, e as células foram homogeneizadas. Essa suspensão de células foi transferida para um tubo tipo “eppendorf”, e foi

centrifugada a 1800 rpm por 5 min. O sobrenadante foi descartado e o precipitado lavado uma vez com PBS. As células foram centrifugadas novamente sob as mesmas condições, e o sobrenadante foi descartado. O precipitado foi ressuspenso em 200 μL de tampão PSSI [1,4 μL de Triton X-100 a 1%, 20 μL de RNase (20 mg.mL^{-1}), 60 μL de iodeto de propídio (2 mg.mL^{-1}) e 8,52 mL de PBS], e as células incubadas por um período de 24 h. As células foram analisadas em citômetro de fluxo (FACSCanto II da Becton & Dickinson, San Jose, CA, EUA).

3.6.5 Atividade Alelopática

3.6.5.1 Preparo do teste

Em caixas gerbox, contendo duas folhas de papel filtro Whatman nº 1,0, previamente autoclavados a 120°C por 20 min, foram adicionados 6,0 mL da solução metanólica das amostras (ECF, EEF, ECC e EEC), preparadas nas concentrações de $0,1 \text{ mg.mL}^{-1}$, $0,25 \text{ mg.mL}^{-1}$, $0,5 \text{ mg.mL}^{-1}$, $0,75 \text{ mg.mL}^{-1}$ e $1,0 \text{ mg.mL}^{-1}$. Em seguida, foram mantidas a 30°C por 24 h para evaporação total do solvente. Após esse período, ressuspendeu-se o extrato umedecendo o papel com 6 mL de água destilada.

Cada gerbox foi dividida em 4 quadrantes que representam a quadruplicata do teste. Em cada quadrante foi depositado 5 sementes de *Lactuca sativa* L. (alface), totalizando 20 sementes por caixa. Como controle, foi utilizado procedimento similar, com ausência das soluções dos extratos, utilizando MeOH (como controle do solvente) e água (como controle negativo). As caixas gerbox contendo as sementes foram levadas a uma câmara de germinação (BOD), umidade relativa ($\pm 80\%$) e temperatura (*L. sativa*, 25°C) constantes (BRASIL, 2009).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com seis tratamentos (um controle do solvente + um controle negativo + quatro extratos). Cada tratamento teve quatro repetições no bioensaio de germinação e de crescimento, totalizando 20 sementes de *L. sativa* por tratamento. Os dados de germinação e crescimento foram submetidos a análise de variância (ANOVA) e comparados pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade ($P < 0,05$). O programa estatístico utilizado foi o Origin 9.0.

3.6.5.2 Teste de germinação

Para os bioensaios de germinação, realizou-se leituras diárias durante 7 dias, no mesmo horário, com a retirada das sementes germinadas. As sementes foram consideradas germinadas com o aparecimento da protusão da radícula através do tegumento. A germinação foi avaliada por meio da velocidade de germinação e porcentagem de germinação (LABORIAU, 1983) e do IVG (Índice de velocidade de germinação) (MAGUIRE, 1962). A velocidade da germinação foi determinada através da relação entre o número de sementes germinadas e o tempo (h) necessário para a germinação. A porcentagem de germinação foi realizada em teste paralelo, onde se utilizou 100 sementes de *L. sativa* tratadas com água, sendo no máximo 25 sementes em cada caixa gerbox, a partir deste experimento, estabeleceu-se a proporção entre sementes que germinaram e as que não germinaram. A somatória da razão da quantidade de sementes germinadas e o dia da germinação, para cada repetição de cada tratamento, foi utilizada para calcular o IVG em:

$$IVG = \left(\frac{G_1}{N_1} \right) + \left(\frac{G_2}{N_2} \right) + \left(\frac{G_n}{N_n} \right) \quad (7)$$

em que IVG = índice velocidade de germinação; G_1, G_2, \dots, G_n = número de plântulas normais germinadas a cada dia; N_1, N_2, \dots, N_n = número de dias decorridos da semeadura da primeira e última contagem.

3.6.5.3 Teste de crescimento

A verificação do crescimento aconteceu no último dia do teste (7º dia), através da leitura do crescimento do hipocótilo e da radícula com auxílio de um paquímetro. Posteriormente essas plântulas foram levadas para secar em uma estufa a 60 °C até peso constante para a obtenção da massa seca.

3.6.5.4 Respiração radicular

O teste para verificar a capacidade de respiração das radículas foi realizado segundo Steponkus e Lanphear (1967). Foram cortadas 10 raízes a 1,0 cm a partir da coifa e transferidas para tubos de ensaio, onde foi adicionado em cada tubo 5 mL

de CTT, 6% (p/v), e 1mL de tampão fosfato de sódio (mono e dibásico) a 0,05 mol.L⁻¹ (pH 7,0). Os tubos foram deixados a temperatura ambiente por 2 h, e posteriormente transferidos para banho-maria a 30 °C por 15 h.

Ao final desse tempo, as soluções dos tubos foram drenadas, as radículas foram lavadas com água destilada, e drenadas novamente. Adicionou-se 7 mL de etanol 95% (v/v) aos tubos contendo as radículas, e os mesmos foram levados para o banho-maria com água fervente (\pm 100 °C) durante 15 min e posteriormente resfriados até temperatura ambiente. Acrescentou-se em cada tubo 10 mL de etanol 95% (v/v) e a leitura foi realizada em espectrofotômetro UV/Vis SHIMADZU-1601 a 530 nm, sendo usado como branco, etanol 95% (v/v). As análises foram realizadas em triplicatas.

3.6.5.5 Atividade enzimática

Os extratos enzimáticos foram preparados ao final do período determinado para germinação e crescimento de cem plântulas expostas aos extratos de *P. meridionale*, na concentração de 1,0 mg.mL⁻¹.

As plântulas foram trituradas com auxílio de nitrogênio líquido e levadas ao freezer (-20 °C). Posteriormente, foram adicionados 10 mL de tampão fosfato de potássio (0,2 mol.L⁻¹, pH 7) e as amostras foram submetidas a centrifugação (2500 rpm por 20 min a 4 °C). O sobrenadante constitui o extrato enzimático (PUTTER, 1974), que foi mantido em refrigeração (4 °C) e utilizado para as dosagens das enzimas, conforme metodologias específicas a seguir.

As análises foram realizadas em triplicatas e as leituras foram efetuadas em espectrofotômetro UV/Vis SHIMADZU-1601.

3.6.5.5.1 Atividade da catalase (CAT) (EC 1.11.1.6)

A atividade da catalase foi determinada segundo Aebi (1984). A 100 µL de extrato enzimático foi adicionado 3 mL de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (12,5 mmol.L⁻¹) a 30 °C. Como branco foi utilizado H₂O₂ (12,5 mmol.L⁻¹).

A atividade da catalase foi determinada pela redução na absorbância das amostras a 240 nm, em consequência do consumo de H₂O₂, utilizando o coeficiente de extinção molar (ϵ = 3,6.10¹ mol.L⁻¹.cm⁻¹) (ANDERSON; PRASAD; STEWART,

1995) e calculada segundo Bracht (2003) por:

$$AE = \frac{\text{Volume de incubação} \cdot \alpha \text{ tg}}{\text{Coeficiente de extinção molar}} \quad (8)$$

Sendo: AE – Atividade Enzimática, $\alpha \text{ tg}$ (variação da tangente) = $\Delta A/\Delta t$; onde ΔA – variação da absorbância; Δt – variação do tempo (min)

3.6.5.5.2 Detecção da α -amilase (EC 3.2.1.1)

O ensaio de atividade da α -amilase, foi realizado segundo AOAC (1965), onde 400 μL dos extratos enzimáticos foram adicionados em tubos de ensaio e mantidos em banho-maria (70 °C durante 20 min) com posterior adição de 0,5 mL de tampão acetato (1,0 mol.L⁻¹, pH 7) e 1,0 mL de solução de amido a 1%, sendo então incubados a 30 °C (5 min). Após este período, foi adicionado 0,5 mL de solução de Lugol 50% e 1 mL de água destilada. A leitura foi realizada em 620 nm e como controle negativo foi usado uma solução contendo 3 mL de tampão acetato (1,0 mol.L⁻¹, pH 7), 3 mL de solução de amido a 1% e 1 mL de lugol 50%. Como branco foi usado 2mL da solução de amido a 1% e 6 mL de tampão acetato (1,0 mol.L⁻¹, pH 7). A atividade enzimática foi calculada por:

$$AE = \left(\frac{Abs_A - Abs_B}{5 \text{ min} \cdot A} \right) \times \left(\frac{20 \text{ min}}{0,5 \text{ min} \cdot 0,5 \text{ g de massa fresca}} \right) \quad (9)$$

Sendo: AE – Atividade Enzimática, Abs_A – absorbância da amostra; Abs_B – absorbância do branco da amostra;

3.6.5.5.3 Atividade da polifenoloxidase (PPO) (EC 1.10.3.1)

No ensaio de atividade da polifenol oxidase, 1 mL de tampão fosfato de potássio (0,05 mol.L⁻¹, pH 6,0), e 0,5 mL de catecol 0,1 mol.L⁻¹, foram adicionados a 1 mL do extrato enzimático. A mistura foi incubada a 30 °C por 30 min e então transferida para um banho de gelo. Posteriormente adicionou-se 0,5 mL de ácido perclórico a 1,4%, e manteve-se a mistura em repouso por 10 min. Como branco foi utilizado 2 mL de tampão fosfato de potássio (0,05 mol.L⁻¹, pH 6,0), e 0,5 mL de catecol 0,1 mol.L⁻¹ (DUANGMAL; APENTEN, 1999). A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 395 nm, e a atividade da enzima polifenol oxidase (U.mL⁻¹) foi

determinada por:

$$AE = \left(\frac{Abs_A}{\epsilon} \right) \times \left(\frac{1}{V} \right) \times FD \times 1000 \quad (10)$$

Sendo: AE – Atividade Enzimática, Abs_A – absorvância da amostra; ϵ = absorvidade molar do catecol ($2,69 \cdot 10^4 \text{ mol.L}^{-1}.\text{cm}^{-1}$); V= volume da solução de enzima utilizada no ensaio (mL); FD = fator de diluição (diluição do extrato enzimático bruto)

3.6.5.5.4 Atividade da ascorbato peroxidase (APX) (EC 1.11.1.11)

A atividade da ascorbato peroxidase foi determinada pelo monitoramento da taxa de oxidação do ascorbato a 290nm ($\epsilon = 2,80 \cdot 10^3 \text{ mol.L}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) (AMAKO; CHEN; ASADA, 1994). A 500 μL do extrato enzimático foi adicionado 3 mL de tampão fosfato de potássio (50 mmol.L⁻¹, pH 7,0), contendo H₂O₂ 1 mmol.L⁻¹, ácido ascórbico 1 mmol.L⁻¹, e ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) 1 mmol.L⁻¹. Como branco foi utilizado 6 mL da solução sem extrato enzimático.

3.6.6 Atividade Inseticida (ex vivo)

3.6.6.1 Atividade do óleo essencial de *P. meridionale* frente ao *Ctenocephalides felis* Bouché

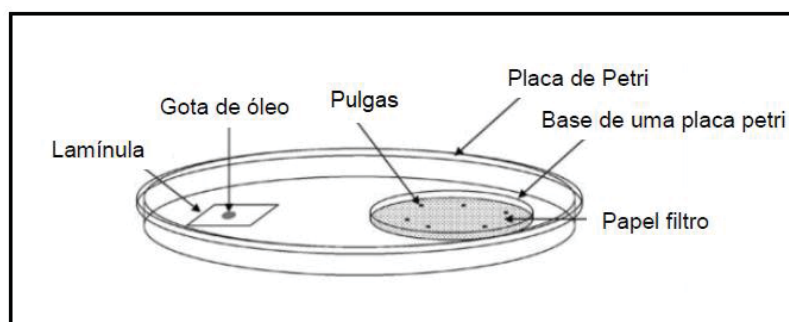
Insetos adultos foram coletados de cães bem alimentados e infectados, no município de Ponta Grossa, Pr, obtidos pelo método de pentear os pelos do cão, e transferidos para tubos de plástico tipo “Falcon”, rotulados com dados de coleta. Os insetos foram mantidos em grupos de seis, e após a constatação da mobilidade dos espécimes, foram transferidos para placas de Petri de vidro com 10 cm de diâmetro, para a realização imediata do experimento, mantidos em ambiente controlado com temperatura de $28 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, 60 a 70% umidade relativa do ar (UR). Os insetos foram identificados pela especialista Dra Ivana de Freitas Bárbola, do laboratório de parasitologia da UEPG.

As análises foram inteiramente casualizadas. A atividade inseticida ocorreu com três tratamentos e três repetições, sendo submetidos a análise de variância (ANOVA) e comparados pelo teste de Tukey à 5% de probabilidade ($P < 0,05$). O programa estatístico utilizado foi o Origin 9.0.

3.6.6.2 Avaliação da atividade fumegante

A atividade fumegante do óleo essencial de *P. meridionale* foi realizada com 90 insetos adultos não sexados, utilizando o método sugerido por Toloza et al. (2006). Esse experimento foi conduzido em um sistema de câmara fechada que permitiu a formação de vapores, utilizando uma placa de Petri e sua respectiva tampa (FIGURA 7). Uma gota (50 µL) do óleo essencial em estudo foi depositada sobre a lamínula de vidro. Três grupos de seis insetos adultos foram expostos ao teste com o óleo essencial e monitorados a cada 10 min durante 1 h. Os resultados foram expressos como tempo médio de *knockdown* (KT₅₀), em min. O *knockdown* consiste na inabilidade dos insetos se moverem, por paralisia imediata e mortalidade. O critério utilizado foi o de que as pulgas permanecessem de costas apresentando ou não, um movimento ocasional das pernas. O KT₅₀ representa o tempo médio em que 50% dos insetos foram imobilizados. Durante todo o procedimento, foram mantidos valores de temperatura de 28 ± 1 °C e UR 60 ± 5 %. Para controle positivo foi utilizado o óleo essencial de *Melaleuca* (Via Farma), e para controle negativo foi utilizado água sobre a lamínula de vidro. O ensaio foi realizado em triplicata.

FIGURA 7: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FUMEGANTE DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Philodendron meridionale*



FONTE: Adaptado de TOLOZA et al., 2006.

3.6.6.3 Avaliação da atividade inseticida por ação tópica

A atividade inseticida por aplicação tópica do óleo essencial de *P. meridionale* foi realizada em câmara fechada, utilizando uma placa de Petri e sua respectiva tampa. Uma gota (30 µL) do óleo essencial na concentração de 10%, diluído em propilenoglicol e álcool etílico (1:4), foi depositado sobre cada espécime,

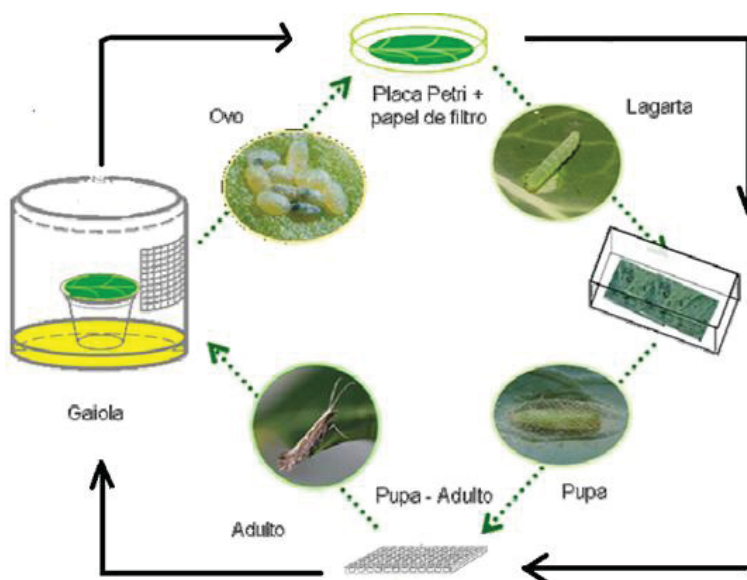
organizados em três grupos de seis insetos adultos, e foram monitorados a cada 10 min durante 1 h. Os resultados foram expressos como tempo médio de *knockdown* (KT₅₀), em min, utilizando os mesmos critérios caracterizados na atividade fumegante. O óleo essencial de *Melaleuca* (Via Farma) foi utilizado para controle positivo e para controle negativo foi utilizando propilenoglicol e álcool etílico na mesma proporção utilizada com os insetos. O ensaio foi realizado em triplicata utilizando um total de 90 insetos adultos não sexados.

3.6.7 Atividade Larvicida

3.6.7.1 Criação de *Plutella xylostella* Linnaeus

Para criação de *P. xylostella*, os insetos foram mantidos e multiplicados em laboratório segundo Torres et al. (2006). O experimento foi realizado no Laboratório de Entomologia Agrícola (LEA), em condições ambientais controladas de UR (65 ± 2 %), temperatura 25 ± 2 °C e fotofase de 12 h claro e 12 h escuro.

Lagartas de primeiro instar foram colocadas em recipientes plásticos com dimensões 15 x 10 x 5 cm, alimentadas com folhas de plantas de couve portuguesa (*Brassica oleracea* var *acephala*), em produção orgânica, previamente lavadas em água corrente, visando obter número suficiente de insetos para os experimentos. As folhas foram trocadas diariamente até que todos os insetos atingissem a fase de pupa. As pupas foram colocadas em tubos de vidro de fundo chato, fechados com filme plástico transparente com pequenos orifícios para circulação do ar. Após a emergência, os adultos foram confinados em gaiolas plásticas transparentes circulares com uma abertura retangular vedada lateralmente com malha fina de “nylon” para possibilitar a circulação do ar. No interior de cada gaiola foi introduzido um pedaço de algodão embebido com uma solução de mel a 10%, para alimentação dos insetos adultos. Dentro dessas gaiolas, foram colocados discos de folha de couve medindo 8 cm de diâmetro sobre papel-filtro em um copo plástico contendo uma esponja umedecida com água destilada em sua abertura, para permitir a oviposição que ocorre na face abaxial das folhas. Os discos foram substituídos diariamente e aqueles com as posturas, foram acondicionados em placa de Petri até a eclosão das larvas (FIGURA 8).

FIGURA 8: ESQUEMA DA CRIAÇÃO DE *Plutella xylostella*

FONTE: TORRES, 2004.

3.6.7.2 Avaliação da atividade larvicida por imersão dos discos de couve

O bioensaio foi realizado segundo segundo Torres (2004), onde foram utilizadas placas de Petri de 9 cm de diâmetro e suas respectivas tampas. Soluções etanólicas dos extratos brutos (EEF, ECC e EEC) e hexânica do extrato bruto ECF, foram preparadas a 10% e utilizadas para a imersão de folhas de couve portuguesa em produção orgânica (discos com aproximadamente 8 cm de diâmetro) por 30 seg, sendo posteriormente colocadas para secagem sobre papel toalha em capela de exaustão. Após a secagem, os discos de couve portuguesa tratados foram transferidos para placa de Petri contendo papel-filtro levemente umedecido com água destilada, onde foram introduzidas 10 lagartas por placa.

Após 40 h da instalação do experimento, os discos de couve foram trocados por outros não tratados e a avaliação das mortalidades foi realizada com 48 h de experimento. Como controle positivo os discos de couve portuguesa foram embebidos em solução aquosa a 10% de ciantraniliprole (Benevia®) e como controle negativo foram embebidos em etanol e hexano. Os testes foram realizados em triplicata e os dados obtidos foram submetidos a ANOVA através do programa ASSISTAT 7.7 e as diferenças entre as médias, foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

3.6.7.3 Avaliação da atividade larvícida por ação tópica

Assim como no ensaio anterior foram utilizadas placas de Petri (9 cm de diâmetro) com tampas, contendo papel-filtro levemente umedecido com água destilada e discos de folhas de couve portuguesa em produção orgânica (8 cm de diâmetro) previamente lavados com água destilada. Foram introduzidas 10 lagartas por placa com aplicação tópica sobre cada lagarta de 2 µl de solução etanólica dos extratos brutos (EEF, ECC e EEC) e hexânica do extrato bruto ECF, preparadas a 10%. Como controle positivo foi utilizado solução aquosa a 10% de ciantraniliprole (Benevia®) e como controle negativo foram utilizados etanol e hexano. A avaliação foi realizada 40 h após a instalação do experimento onde foram contabilizadas as mortalidades. Os testes foram realizados em triplicata e os dados obtidos foram submetidos a ANOVA através do programa ASSISTAT 7.7 e as diferenças entre as médias, foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4 ANÁLISE DE RESULTADOS

4.1 ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DO MATERIAL VEGETAL

Os resultados da análise da perda de água por dessecação (umidade) e a determinação de resíduo por incineração (cinzas) estão demonstrados na (TABELA 5) e apresentados como média \pm desvio padrão. A importância da determinação da perda por dessecação está ligada à estabilidade microbiológica da matéria-prima vegetal, como expressão da sua suscetibilidade ao desenvolvimento de fungos e bactérias e à estabilidade química, representada, especialmente, pelos processos de hidrólise (COSTA et al., 2009).

TABELA 5: TEOR DE UMIDADE E DE CINZAS TOTAIS DE *Philodendron meridionale*

ANÁLISE	MATERIAL VEGETAL: CAULE	MATERIAL VEGETAL: FOLHA
Umidade (%)	7,10 \pm 0,364	5,76 \pm 0,302
Cinzas totais (%)	12,44 \pm 0,107	13,49 \pm 0,193

FONTE: a autora, 2014.

Estudos sobre a constituição química e teores de cinzas das plantas cultivadas são importantes como etapa de identificação das espécies, entretanto muitas plantas não possuem monografias farmacopeicas e necessitam de estudos visando estabelecer alguns parâmetros de qualidade, tais como os marcadores químicos e valores de cinzas totais (ALVES et al., 2007).

Neste trabalho, foram determinados os parâmetros para as análises do teor de umidade e cinzas totais para a espécie *P. meridionale*, pela primeira vez. A determinação destas análises é muito importante para o controle de qualidade, uma vez que, auxilia na confirmação da identidade botânica e permite a identificação de adulterações e materiais estranhos (pureza inorgânicas) na matéria-prima vegetal (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010). Estes dados são considerados parâmetros de qualidade, e são amplamente utilizados para garantir a confiabilidade dos vegetais utilizados na produção de medicamentos fitoterápicos.

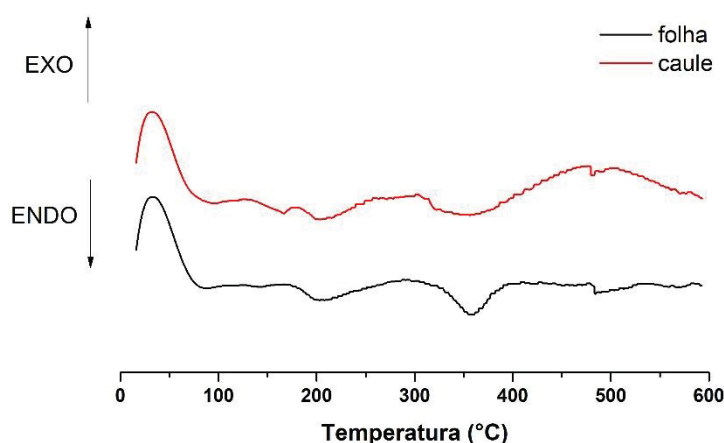
Não existem teores máximos para cinzas totais estabelecidos oficialmente para a espécie em estudo, nem para outras espécies do gênero, contudo, os valores obtidos nos testes de pureza são compatíveis com os descritos nas monografias da maioria das espécies vegetais.

4.1.1 Análise Térmica

Considerando a atmosfera inerte, pode-se afirmar que os comportamentos termodinâmicos de folhas e caules de *P. meridionale* são semelhantes em relação às endotermas (GRÁFICO 1). A primeira endoterma (75 °C) ocorre em função do processo de desidratação, que constitui a saída da água de adesão presente na parede celular e que necessita de energia para ser retirada do vegetal (PEREIRA et al., 2013), sendo geralmente associada a primeira perda de massa nas curvas de TG.

O processo endotérmico que ocorre a 200 °C corresponde à produção e evaporação de produtos voláteis, enquanto a endoterma que ocorre entre 310 °C e 390 °C é atribuída à desidratação e despolimerização dos componentes da celulose, o que também leva a formação de produtos voláteis (SHAFIZADEH; BRADBURY, 1979). Um tênue processo exotérmico foi observado a partir de 400°C, principalmente em caules, o que segundo Shafizadeh e Bradbury (1979) deve-se a pirólise que se dá através de reações de transglicosilação, levando a produção de açúcares anidros como os principais produtos de termólise.

GRÁFICO 1: CURVAS DE CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC) PARA CAULES E FOLHAS DE *Philodendron meridionale*



Atmosfera de nitrogênio.
FONTE: a autora, 2017.

As análises termogravimétricas em uma matriz vegetal são complexas, pois o comportamento cinético é comandado pelas substâncias majoritárias. Constitui uma caracterização do material vegetal, dependente de sua constituição química, quanto a equivalente perda de massa do material e as possíveis reações endotérmicas e exotérmicas que ocorrem com o aumento da temperatura, podendo ser utilizada em seu controle de qualidade. Segundo Aragão et al. (2002), o que interfere no comportamento cinético de reação é a grande quantidade de graxas e variedade de metabólitos secundários, resinas, ligninas e fibras (hemicelulose e celulose) que os vegetais contêm.

A perda percentual de massa da matéria orgânica, obtida através da análise térmica, assim como as temperaturas iniciais e finais de cada etapa, são apresentadas na (TABELA 6). O percentual de degradação foi maior quando a análise ocorreu em atmosfera de ar sintético, isso porque o oxigênio desempenha um papel dominante e a degradação oxidativa prossegue mais rapidamente do que a pirólise em nitrogênio (SHAFIZADEH; BRADBURY, 1979).

TABELA 6: PERDA DE MASSA PERCENTUAL DETERMINADA ATRAVÉS DO MÉTODO TERMOGRAVIMÉTRICO PARA FOLHAS E CAULES DE *Philodendron meridionale*

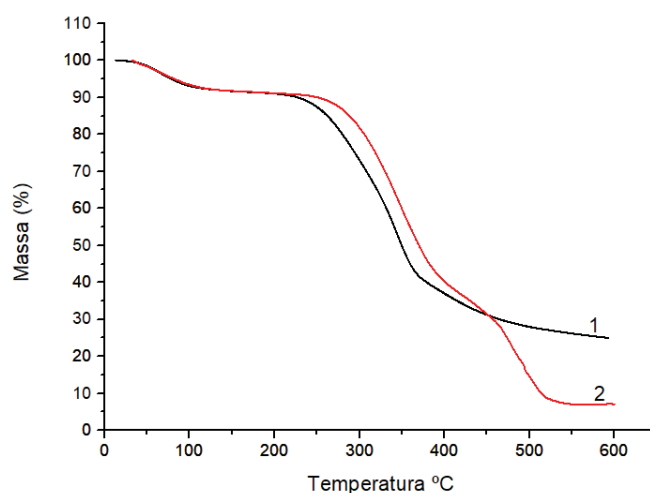
Etapas		ATMOSFERA DE N ₂				ATMOSFERA DE AR SINTÉTICO			
		Folha	%	Caule	%	Folha	%	Caule	%
1	T _i (°C)	20	8,34	20	9,39	20	8,61	20	9,58
	T _f (°C)	180		160		180		150	
2	T _i (°C)	180	46,91	160	42,02	180	54,30	150	43,32
	T _f (°C)	360		355		420		390	
3	T _i (°C)	360	19,78	355	15,09	420	29,55	390	22,82
	T _f (°C)	600		600		520		480	
4	T _i (°C)					520	0,091	480	6,66
	T _f (°C)					600		600	

T_i: Temperatura inicial da etapa; T_f: Temperatura final da etapa; %: percentual de massa degradada em cada etapa.

FONTE: a autora, 2017.

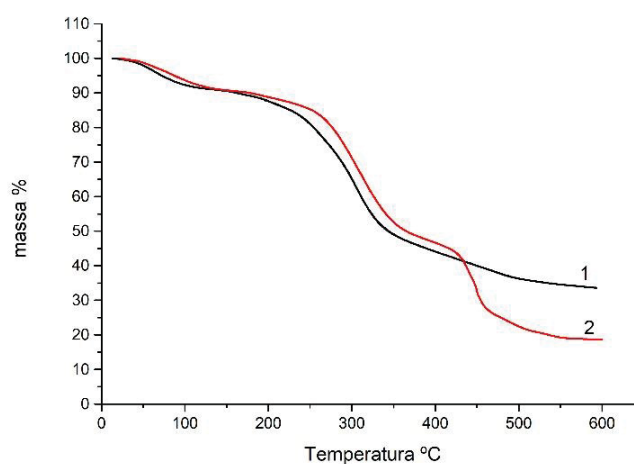
O perfil de degradação térmica das folhas de *P. meridionale* estão identificados através das curvas TG/DTG (GRÁFICO 2), e apresentaram um comportamento semelhante, ao perfil de degradação térmica de caules (GRÁFICO 3), com quatro perdas de massa em atmosfera de ar sintético e com três perdas de massa em atmosfera de nitrogênio. Pela análise térmica, constatou-se que folhas e caules secos de *P. meridionale* apresentam boa estabilidade térmica até 150 °C, o que garante confiabilidade térmica nos processos de extração à quente, como em aparelhos de Soxhlet.

GRÁFICO 2: PERFIL DE DEGRADAÇÃO TÉRMICA (TG) DE FOLHAS SECAS DE *Philodendron meridionale*



Em atmosfera de nitrogênio (1) e em atmosfera de ar sintético (2).
 FONTE: a autora, 2017.

GRÁFICO 3: PERFIL DE DEGRADAÇÃO TÉRMICA (TG) DE CAULES SECOS DE *Philodendron meridionale*



Em atmosfera de nitrogênio (1) e em atmosfera de ar sintético (2).
 FONTE: a autora, 2017.

A perda de água ocorreu entre a temperatura inicial do experimento, em torno de 20 °C até aproximadamente 150 °C para os caules e 180 °C para as folhas. Notou-se uma perda de massa de 9,39% para os caules e 8,34% para as folhas em atmosfera de ar sintético, e 9,58% para caules e 8,61% para folhas em atmosfera de nitrogênio, resultados um pouco acima do obtido pelo método gravimétrico convencional para determinação da umidade (7,10% e 5,76% respectivamente para caules e folhas), com prevalência de umidade nos caules, embora a perda de água

nos caules tenha ocorrido de forma mais lenta quando em atmosfera de ar sintético. Foi observado que os teores de umidade encontrados para todas as amostras (obtidos por ambos os métodos), estão de acordo com os valores estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira (2010), para a maioria das drogas vegetais, sendo inferiores ao limite máximo de 14%.

O processo referente à etapa 2, onde foi observado a mais acentuada perda de massa, pode ser atribuído à oxidação e decomposição da matéria orgânica, como taninos e flavonoides (SOUZA, 2015), degradação térmica dos triglicerídeos, principalmente os constituídos por ácidos graxos poli-insaturados (BENÍCIO; QUEIROGA NETO; SOUSA, 2009), assim como carboidratos e demais compostos orgânicos (ARAÚJO et al., 2006).

Martins et al. (2009) comentam que até cerca de 250 °C, pode ocorrer simultaneamente reações de oxidação, reticulação e cisão de cadeias. No processo de degradação que ocorre acima de 250 °C, em atmosfera de ar sintético, predomina a degradação oxidativa, com perda de massa acentuada e formação de aldeídos, cetonas e ácidos carboxílicos. A oxidação a baixa temperatura pode ser considerada como sendo realizada em três estágios: iniciação, propagação e produção de produtos de degradação. A propagação da reação é através da produção de hidroperóxidos que rapidamente alcançam uma concentração estável a baixas temperaturas. As taxas de produção de dióxido de carbono e monóxido de carbono aumentam gradualmente, indicando a natureza autocatalítica da reação (SHAFIZADEH; BRADBURY, 1979).

Pereira et al. (2013), relatam que a perda de massa que ocorre de 250 a 300 °C, pode também ser atribuída à degradação das hemiceluloses. A perda de massa referente à celulose é posterior à degradação térmica das hemiceluloses, devido à maior quantidade de energia necessária para a despolimerização da cadeia de celulose e a quebra de seus monômeros. Já a lignina, componente identificado em *P. meridionale* através de testes histoquímicos, por ocasião do estudo morfoanatômico, sofre degradação em um amplo intervalo de temperatura, mas que é intensificada em temperaturas acima de 400 °C.

A etapa 3, no intervalo de temperatura em que acontecem ambos os processos com folhas e caules de *P. meridionale*, pode ser atribuída à decomposição mais lenta de cadeias poliméricas ou resíduos poliméricos reticulados (MARTINS et al., 2009), a carbonização da matéria orgânica com formação de resíduos e a

degradação dos compostos formados na segunda etapa de degradação térmica (FARIA et al., 2002).

Em atmosfera de gás nitrogênio com o intervalo de temperatura até 600 °C, não houve nova etapa de degradação vegetal, obtendo-se massa equivalente a 33,58% nos caules e 24,97% nas folhas, correspondendo a resíduos carboníferos.

Em atmosfera sob fluxo de ar sintético os resíduos carbonizados se transformam em cinzas, representados através da etapa 4. Elementos minerais como cálcio, ferro, magnésio ou outros que supostamente sejam encontrados na amostra, constituem as cinzas, que se apresentam na forma de sulfatos, carbonatos, fosfatos, silicatos e cloretos, dependendo das condições de incineração e da composição química do vegetal (CECCHI, 2003). Os teores de cinzas foram obtidos diretamente da porcentagem do produto de decomposição térmica na temperatura de 600 °C.

Obteve-se através do método gravimétrico convencional, um teor de cinzas equivalente a 12,44% para o caule e de 13,49% para folhas, que divergem, ao serem comparados com os resíduos obtidos por análise térmica, em que 17,79% do caule e 7,70% das folhas resultaram em cinzas. Essa diferença pode estar relacionada a maior precisão da termogravimetria e pela temperatura de varredura a qual as amostras foram submetidas, sendo decompostas em seus respectivos óxidos (SOUZA, 2010).

A análise térmica consiste em um conjunto de técnicas onde, em função da temperatura e/ou do tempo, determina-se as propriedades físicas de uma substância e/ou de seus produtos de reação, quando submetidos a programação controlada de temperatura (ARAÚJO et al., 2006). A pequena quantidade de amostra utilizada, a rapidez de resultados e a limpeza da técnica fazem da termogravimetria uma poderosa ferramenta nos estudos tecnológicos para padronização das matérias-primas vegetais utilizadas nos medicamentos fitoterápicos (ARAGÃO et al., 2002).

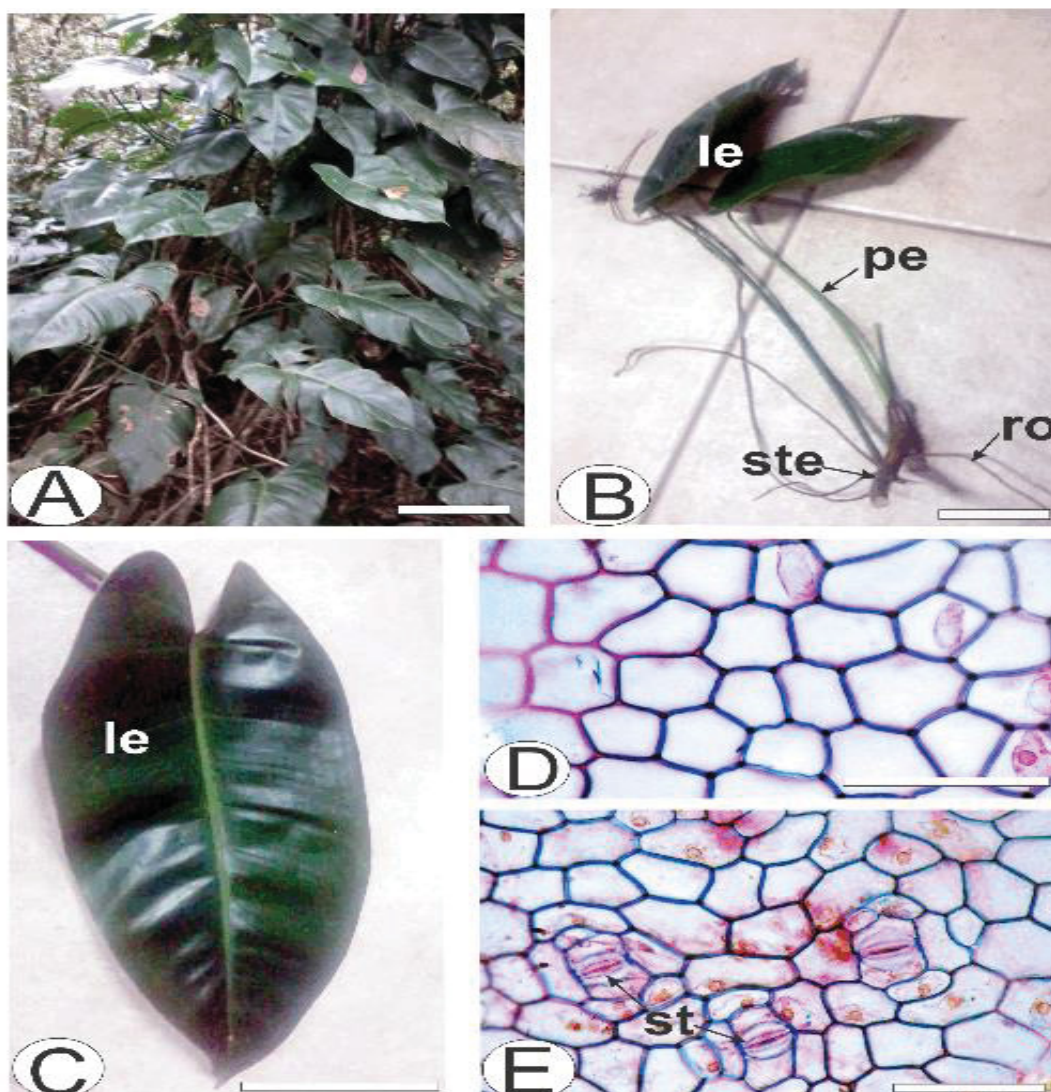
4.2 ESTUDO MORFOANATÔMICO

4.2.1 Folha

A análise morfológica de *P meridionale* em seu *habitat* (FIGURA 9A), demonstra a característica de planta epífita, sendo dominante na região onde é

encontrada, prevalecendo em termos quantitativos em relação à outras espécies vegetais que compartilham o mesmo ambiente.

FIGURA 9: ASPECTO ANATÔMICO E MORFOLÓGICO DE FOLHAS DE *Philodendron meridionale*



Aspecto: A. Geral. B. Aparência dos órgãos vegetativos, mostrando folhas (le), pecíolo (pe), raízes (ro) e haste (ste). C. Aspecto geral da folha com lâmina (le). D. Face adaxial da epiderme, em vista de superfície, revelando paredes das células epidérmicas anticlinal. E. Face abaxial da epiderme, em vista de superfície, mostrando as paredes celulares da epiderme anticlinal e estômatos (st).

Barra de escala = 5 cm (A, B); 10 cm (C), 50 μ m (D, E).

FONTE: a autora, 2015.

As folhas em *Philodendron* são formadas por pecíolo, bainha e lâmina (COELHO, 2000). Caracteriza-se por apresentar folhas simples, pecioladas, glabras, amplas e com formas ovaladas. As folhas têm um ápice agudo, apresenta a base da lâmina foliar cordada, nervuras laterais primárias fracamente impressas e 8-13 lóculos no ovário (BUTURI; TEMPONI; SAKURAGUI, 2014). Apresentam cerca de

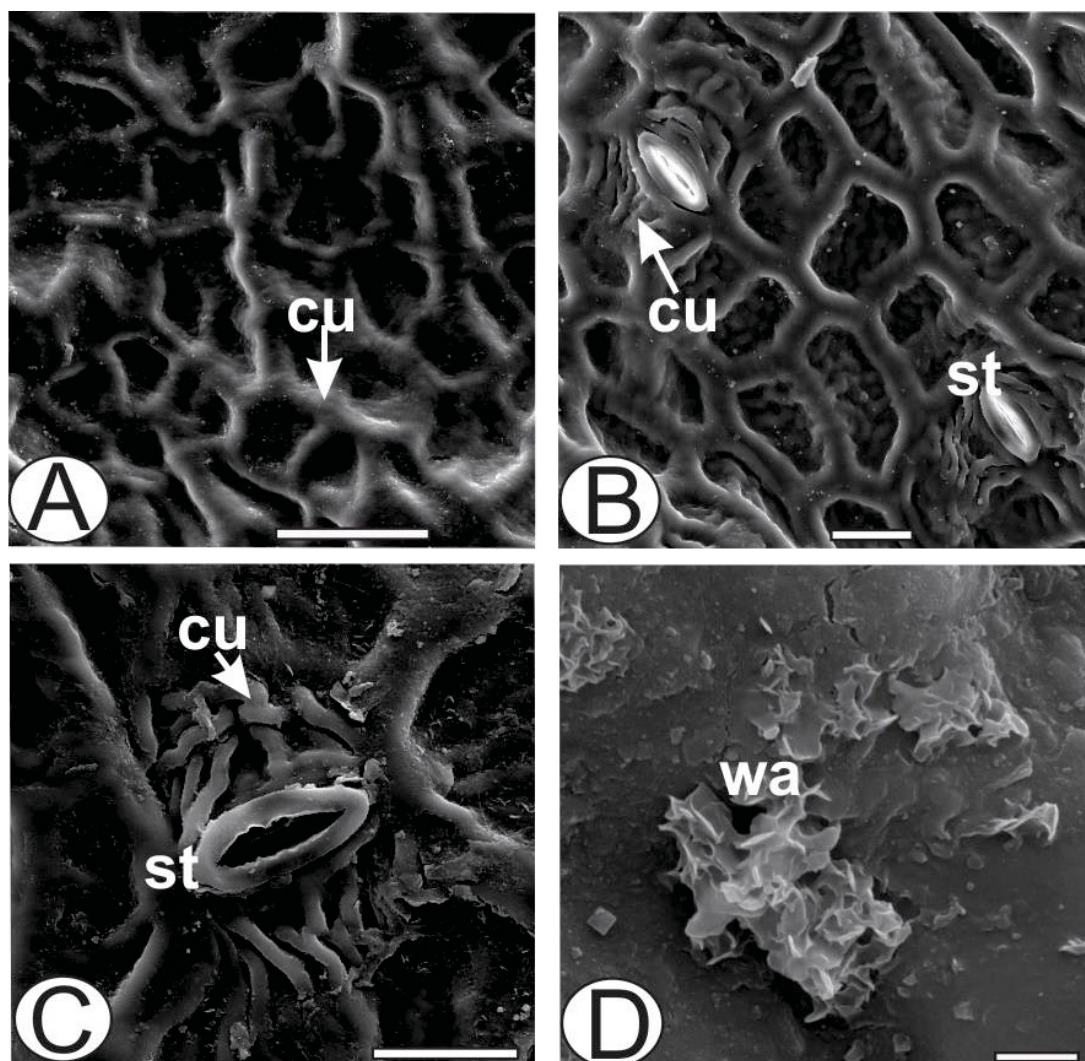
20 cm de comprimento e 12 cm de largura (FIGURA 9C). Possuem uma haste cilíndrica e verde, medindo cerca de 1,5 cm de diâmetro (FIGURA 9B). O pecíolo é cilíndrico e mede cerca de 22 cm de comprimento (FIGURA 9B).

Em cortes paradérmicos da epiderme da folha observa-se paredes celulares anticlinais retas e finas (FIGURAS 9D, 9E) em ambos os lados. A planta é considerada como hipoestomática, uma vez que apresenta estômatos do tipo braquiparatetracítico (FIGURA 9E), somente na face abaxial. Junto aos estômatos, é observado um segundo par de células auxiliares que são muitas vezes alinhadas ortogonalmente para o primeiro par, que cruza os pólos das células guarda. Este tipo de estômato foi encontrado em *Philodendron hederaceum* (Jacq.) Schott, no entanto em outras espécies do gênero foram encontrados outros tipos de estômato como tetracítico (SAITO; LIMA, 2009), braquiparacítico, braquiparahexacítico, anfibraquiparacítico e anomocítico (KLIMKO; WAWRZYNSKA; WILAND-SZYMANSKA, 2014). No que diz respeito à presença de estômatos nas folhas de *Philodendron*, existem algumas folhas que são hipoestomáticas (SAITO; LIMA, 2009) e anfi-hipoestomáticas (KLIMKO; WAWRZYNSKA; WILAND-SZYMANSKA, 2014).

A cutícula é estriada, e tem uma espessura variável; a mesma aparece em tiras ligadas entre si com orientação irregular (FIGURAS 10A, 10B). Além disso, a cutícula se torna visível à partir de células de guarda em torno de estômatos (FIGURAS 10B, 10C), ceras epicuticular (FIGURA 10D) são encontrados em ambas as superfícies. A forma das células epidérmicas encontradas neste trabalho é semelhante a de outras espécies *Philodendron*, e a cutícula apresenta saliências irregulares nas paredes periclinais, o que é característico do gênero (como observado em *Philodendron melanochrysum* Linden & André e *Philodendron bipennifolium* Schott) (KLIMKO; WAWRZYNSKA; WILAND-SZYMANSKA, 2014).

A epiderme na secção transversal é unisseriada em ambos os lados, sendo revestida com uma fina cutícula (FIGURA 11A). No gênero, algumas espécies apresentam hipoderme, que pode ser encontrada logo abaixo da epiderme com 1-2 camadas, no caso de *P. martianum* ou 1-4 camadas em *P. bipinnatifidum*. As características epidérmicas ajudam a diferenciar as espécies de *Philodendron* (KLIMKO; WAWRZYNSKA; WILAND-SZYMANSKA, 2014).

FIGURA 10: FOLHA DE *Philodendron meridionale* EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)



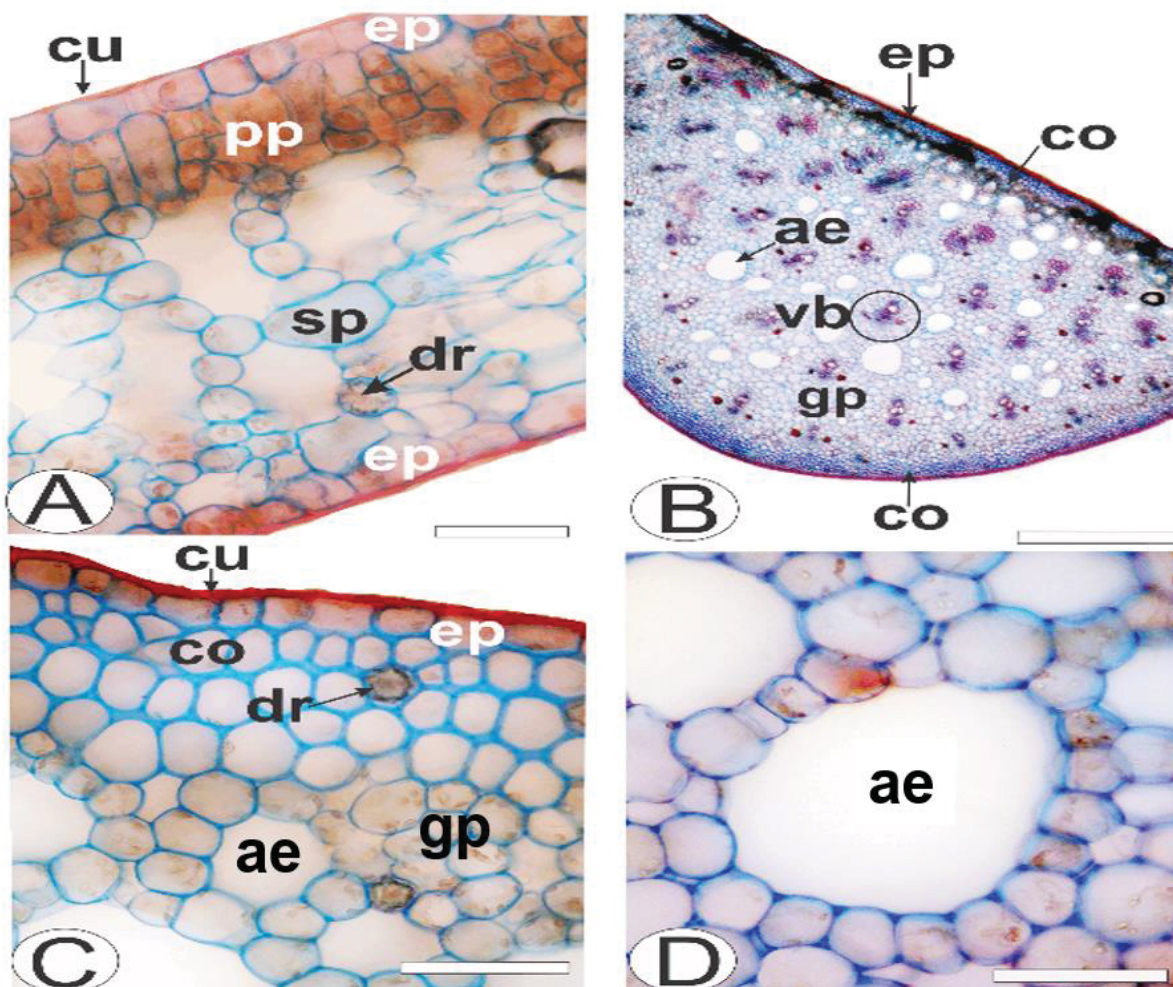
A. Face adaxial da epiderme, em vista frontal, revelando cutícula (cu) em tiras. B. Face abaxial da epiderme, em vista frontal, mostrando cutícula (cu) e estômato. (st). C. Face abaxial da epiderme em vista de superfície, mostrando estômatos (st) e cutícula estriada (cu). D. Detalhe de ceras (WA) no lado adaxial, em vista frontal. Barra de escala = 50 μ m (A); 20 μ m (B, C), 2 $\frac{1}{4}$ μ m (D).

FONTE: a autora, 2015.

Em *P. meridionale*, o mesofilo possui organização dorsiventral (FIGURA 11A), é formado por 1-2 camadas do parênquima paliçádico e aproximadamente 10 camadas do parênquima esponjoso. O parênquima esponjoso é constituído com grandes espaços intercelulares, e com feixes vasculares colaterais menores que são incorporados na região média do mesofilo e ao lado do floema, podem ser observadas calotas de fibras perivasculares. Várias espécies de *Philodendron* tem um mesofilo dorsiventral onde o parênquima esponjoso é grosso e tem células com

espaços de ar compactado. O parênquima paliçádico é especialmente pequeno (SAITO; LIMA, 2009; KLIMKO; WAWRZYNSKA; WILAND-SZYMANSKA, 2014).

FIGURA 11: *Philodendron meridionale*, ANATOMIA DA FOLHA



A. Folha, revelando mesofilo dorsiventral, cutícula (cu), drusas (dr), a epiderme (ep), parênquima esponjoso (sp) e parênquima paliçádico (pp). B. Nervura mediana, mostrando aerenquima (ae), colenquima (co), a epiderme (ep), parênquima (gp) e feixes vasculares (vb). C. Detalhe da nervura central, exibindo aerenquima (ae), colenquima (co), drusas (dr), a epiderme (ep), cutícula (cu), parênquima (gp). D. Detalhe do aerenquima (ae). Barra de escala = 50 μ m (A, C, D); 200 μ m (B).

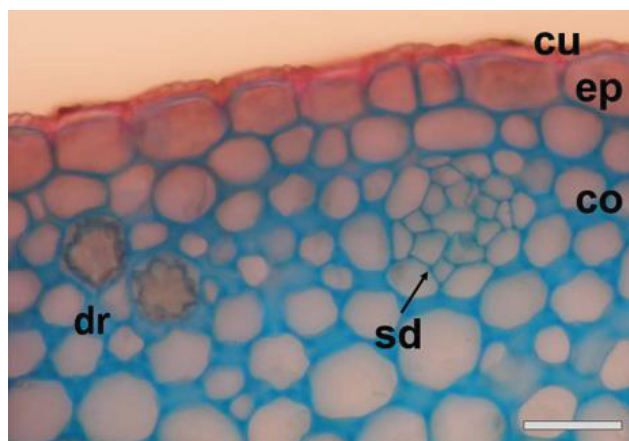
FONTE: a autora, 2015.

Neste estudo, observa-se a nervura central (FIGURA 11B) com uma forma plana no lado adaxial e uma forma convexa no lado abaxial. A forma da secção transversal e do padrão vascular da nervura central pode ser utilizado para fins de avaliação de várias espécies (OLIVEIRA et al., 2011; KLIMKO; WAWRZYNSKA; WILAND-SZYMANSKA, 2014; BOBEK et al., 2015), uma vez que no gênero *Philodendron* as formas referentes à nervura central variam de convexa-plana,

ligeiramente convexa-convexa, a ligeiramente afundada-convexa (KLIMKO; WAWRZYNSKA; WILAND-SZYMANSKA, 2014).

Em *P. meridionale*, a epiderme de camada única é revestida com uma fina cutícula e apresenta-se ligeiramente estriada (FIGURAS 11B, 11C). Na superfície adaxial, o parênquima paliçádico é frequentemente interrompido por várias camadas de colênquima angular que também aparecem no lado abaxial (FIGURA 11B). Existem canais secretores inseridos no colênquima que são formados por 7-10 células em um epitélio de camada dupla (FIGURA 12), os quais podem estar relacionados com o armazenamento do óleo essencial e/ou resina. Como característico de monocotiledôneas, os feixes vasculares colaterais estão dispostos de maneira irregular por todo o tecido, com células parenquimáticas lignificadas no xilema (FIGURAS 11B, 13). Grandes cavidades de ar estão separadas por camadas uniseriadas de células parenquimáticas (FIGURAS 11B, 11C, 11D). Estas características foram encontradas em várias espécies de *Philodendron* (KLIMKO; WAWRZYNSKA; WILAND-SZYMANSKA, 2014).

FIGURA 12: *Philodendron meridionale*, ANATOMIA DA FOLHA – CANAIS SECRETORES

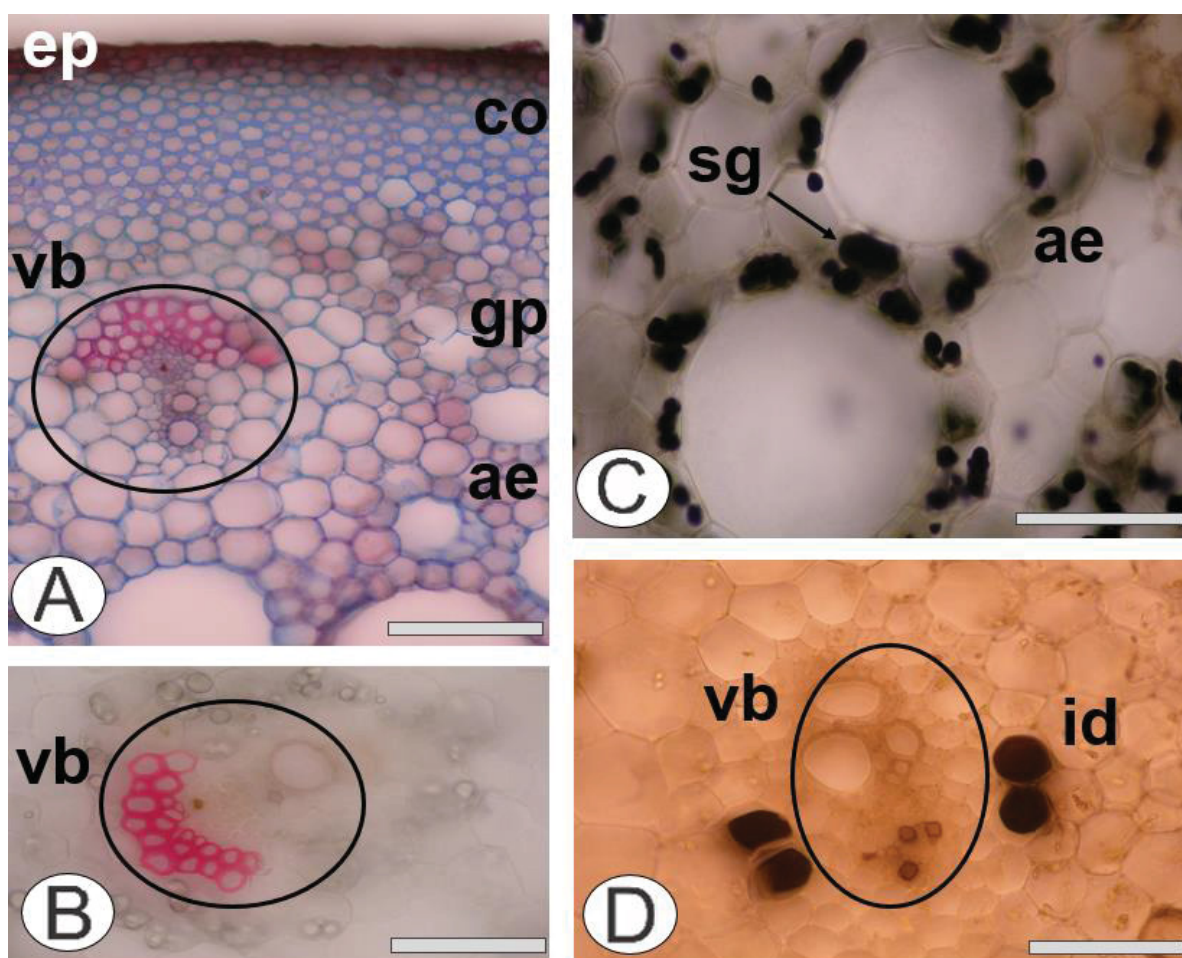


Folha, revelando cutícula (cu), a epiderme (ep), colênquima (co), drusas (dr), e ductos secretórios (sd). Barra de escala = 50 µm
 FONTE: a autora, 2015.

O pecíolo possui caráter taxonômico muito importante; em corte transversal, tem uma forma cilíndrica e uma epiderme com características semelhantes àquelas descritas para a lâmina foliar. Apresenta um colênquima angular contínuo, constituído por 10-12 camadas de células. Existem vários feixes vasculares de tamanhos variados, distribuídos no tecido parenquimático e que ao serem corados com floroglucina apresentaram coloração rósea intensa, caracterizando a presença

de compostos lignificados na região do xilema (FIGURAS 13A, 13B). Próximo aos feixes vasculares foram observados idioblastos com coloração vermelha quando corados com fucsina e azul de Astra, e que sob investigação microquímica apresentaram coloração marrom escura em presença de FeCl_3 à 5%, o que caracteriza uma reação de complexação com compostos fenólicos (FIGURA 13D). Células isodiamétricas determinam espaços que são caracterizados como aerênquimas (FIGURAS 13A, 13C) e onde encontram-se grãos de amido de maneiras dispersas. Essas inclusões orgânicas reagiram positivamente ao lugol em testes microquímicos (FIGURA 13C) e são características que foram observadas também em *P. bipinnatifidum* (SAITO; LIMA, 2009).

FIGURA 13: *Philodendron meridionale*, ANATOMIA DO PECÍOLO



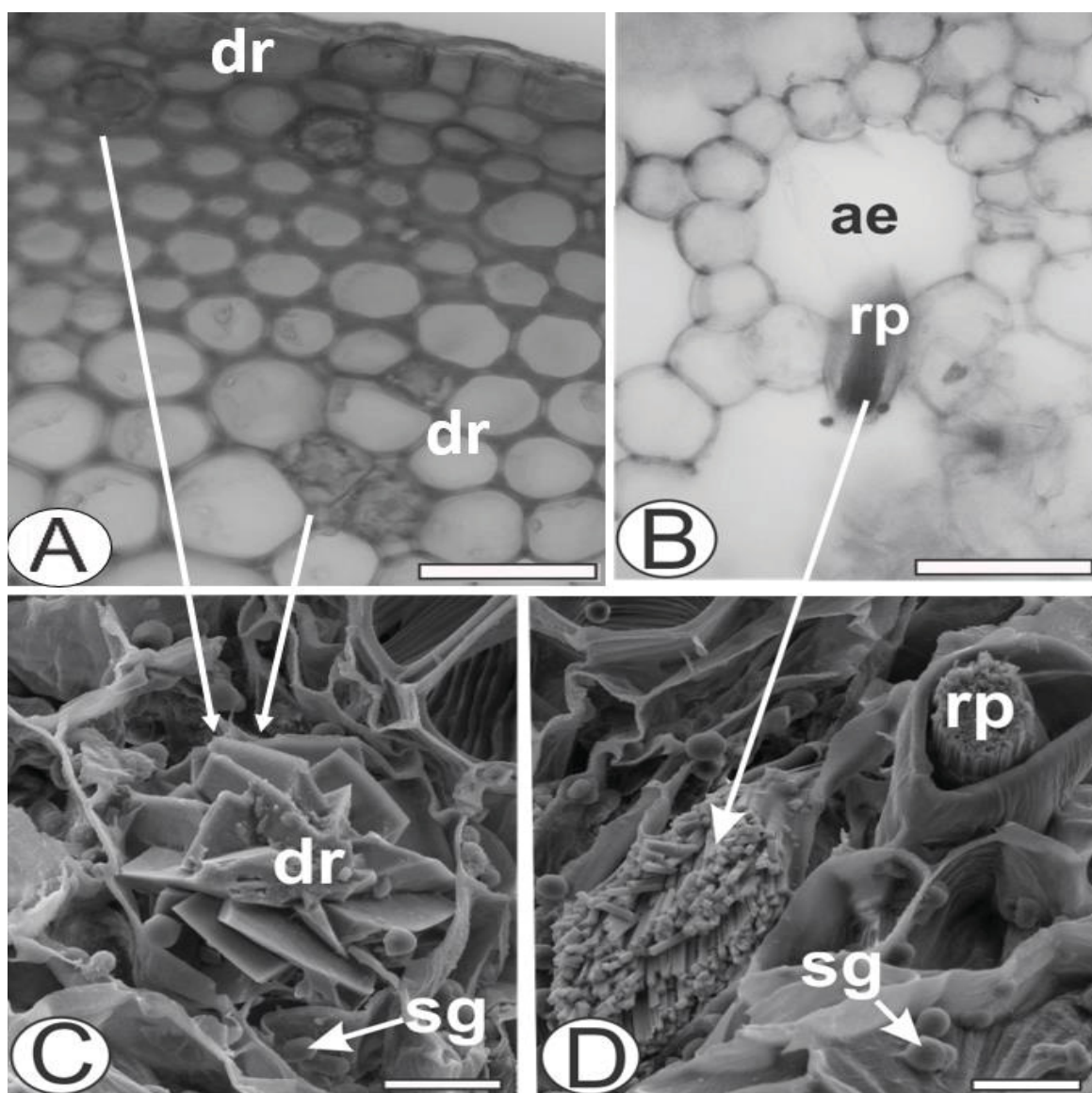
A. Organização em secção transversal revelando epiderme (ep), colênquima (co) e parênquima (gp) onde são observados feixes vasculares (vb) e aerênquima (ae). B. Feixes vasculares (vb) em análise microquímica, corados com Floroglucina. C Células isodiamétricas em aerênquimas (ae) contendo grãos de amido (sg). D Feixes vasculares (vb) e idioblastos (id) corados com FeCl_3 à 5%.

Escala = 100µm (B); 200 µm (A)

FONTE: a autora, 2015.

Em todas as partes do parênquima encontram-se idioblastos, drusas e ráfides cristalíferos, mesmo dentro ou na periferia dos canais de cavidades preenchidas com ar (FIGURA 14B). As drusas têm mostrado agregação de cristal tabular (FIGURAS 11A, 11C, 14A, 14C) e as ráfides ocorrem como um feixe de cristais que aparecem em formas intermediárias de estiloides e ráfides (FIGURAS 14B, 14D).

FIGURA 14: PECÍOLO DE *Philodendron meridionale* EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)



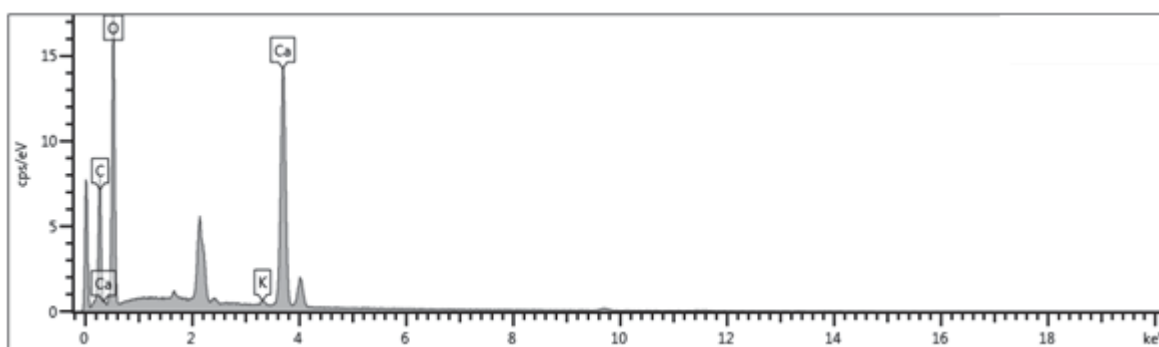
A. Organização do pecíolo, mostrando a presença de drusas (dr) em tecido parenquimático. B. Detalhe do aerênquima (ae) e de ráfides (rp). C. Detalhe de drusas e grãos de amido (sg) em MEV. D. Detalhe de ráfides (rp) e grãos de amido (sg) em MEV. Barra de escala = 20µm (C, D), 50µm (A,B).

FONTE: a autora, 2015.

Os cristais de oxalato de cálcio que são encontrados nas plantas são geralmente diferenciados em ráfides, drusas, prismas, estiloides e areias (PRYCHID; RUDALL, 1999; FRANCESCHI; NAKATA, 2005; CHAIRIYAH; HARIJATI; MASTUTI, 2016). Prychid e Rudall (1999) relataram que, no caso das monocotiledôneas, as drusas e os estiloides não ocorrem juntos na mesma espécie, exceto às vezes no gênero *Acorus*. Keating (2002) declarou que, as ráfides e a areia cristalina geralmente ocorrem em conjunto com as drusas. Cinco tipos de cristais de oxalato de cálcio foram encontrados no gênero *Philodendron*, três dos quais eram ráfides, drusas e estiloides (KLIMKO; WAWRZYNSKA; WILAND-SZYMANSKA, 2014). A presença de células idioblásticas com ráfides de oxalato de cálcio é o caráter definidor da família Araceae (PRYCHID; RUDALL, 1999; KEATING, 2002; KLIMKO; WAWRZYNSKA; WILAND-SZYMANSKA, 2016).

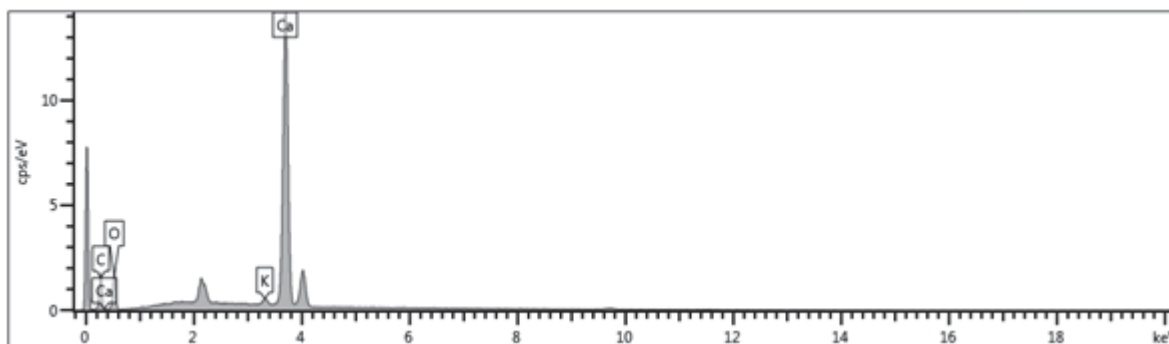
No presente estudo, os cristais foram analisados para determinação de sua composição elementar, e os espectros das ráfides apresentaram picos proeminentes para o cálcio (26,55%), carbono (16,41%) e oxigênio (56,66%), como pode ser visto na (FIGURA 15). Os espectros das drusas (FIGURA 16) apresentaram picos proeminentes de cálcio (62,97%), carbono (9,78%) e oxigênio (26,25%). Estes espectros demonstraram que estes cristais contém oxalato de cálcio como elemento principal. Cristais como os de oxalato de cálcio foram identificados em vários estudos por meio de EDS (HE et al.,2012). Por ocasião dos testes microquímicos, os cristais foram também testados em presença de ácido sulfúrico 1%, onde observou-se a total dissolução dos mesmos, o que segundo Oliveira e Akisue (1989) caracteriza como sendo constituído por oxalato de cálcio.

FIGURA 15: ESPECTROSCOPIA DE RAIOS X DE ENERGIA DISPERSIVA (EDS) DE RÁFIDES DE *Philodendron meridionale*



FONTE: a autora, 2015.

FIGURA 16: ESPECTROSCOPIA DE RAIOS X DE ENERGIA DISPERSIVA (EDS) DE DRUSAS DE *Philodendron meridionale*



FONTE: a autora, 2015.

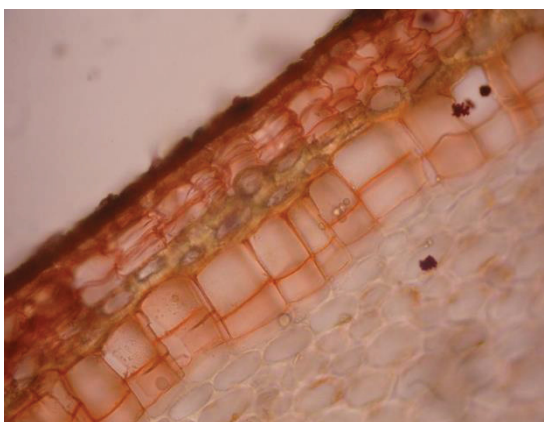
Os cristais de oxalato de cálcio em uma planta constituem uma formação típica intracelular, sendo a sua função pouco conhecida, podendo ser característica de um mecanismo de defesa contra animais forrageiros, participação na homeostase do cálcio ou simplesmente uma forma de armazenar o excesso de cálcio no sistema vegetal. Em muitas plantas, os oxalatos são metabolizados muito lentamente ou não são metabolizados. No entanto, podem ter um efeito tóxico quando se acumulam em quantidades excessivas (FRANCESCHI; HORNER, 1980).

Muitas plantas forrageiras, usadas como fonte de alimento para animais, podem acumular oxalato em concentrações tóxicas, o que pode causar envenenamento aos ruminantes. No entanto, a susceptibilidade dos animais ao envenenamento por oxalato depende de fatores como a forma química do oxalato, a idade do animal, a adaptação dos animais à forragem rica em oxalato, a composição da dieta e a disponibilidade de água para os animais (RAHMAN; KAWAMURA, 2011) e do mesmo modo se for ingerido por seres humanos. Um estudo realizado por Konyar, Öztürk e Dane (2014) demonstra que as drusas são os cristais de oxalato de cálcio mais abundantes em órgãos venenosos das plantas por eles estudadas, no entanto, não há correlação absoluta entre a presença de cristais de oxalato de cálcio e a toxicidade dos órgãos das plantas, uma vez que nestes órgãos foram encontrados outros metabólitos secundários como glicosídeos e alcaloides, e que também caracterizam-se por apresentarem toxicidade.

4.2.2 Caule

O caule de *P. meridionale* tem uma forma circular, onde não foram observados tricomas. Em seu sistema de revestimento apresenta periderme bem definida, sendo visível várias camadas de córtex estratificado e que apresentaram reação positiva ao serem coradas com Sudam III (FIGURA 17), caracterizando a presença de substâncias lipofílicas. O córtex externo é formado de 5-6 camadas de colênquima angular. O restante do córtex é constituído por células parenquimatosas (FIGURA 18A) onde vários grãos de amido podem ser encontrados (FIGURAS 18A, 18B, 18C). Apresentam ductos secretores espalhados em três ou quatro camadas no córtex e têm células de parede fina que cercam o epitélio secretório (FIGURA 18A), o que segundo Mayo, Bogner e Boyce (1997) podem estar relacionados a canais secretores de resina.

FIGURA 17: *Philodendron meridionale* - ORGANIZAÇÃO MOSTRANDO CÓRTEX ESTRATIFICADO CORADO COM SUDAM III

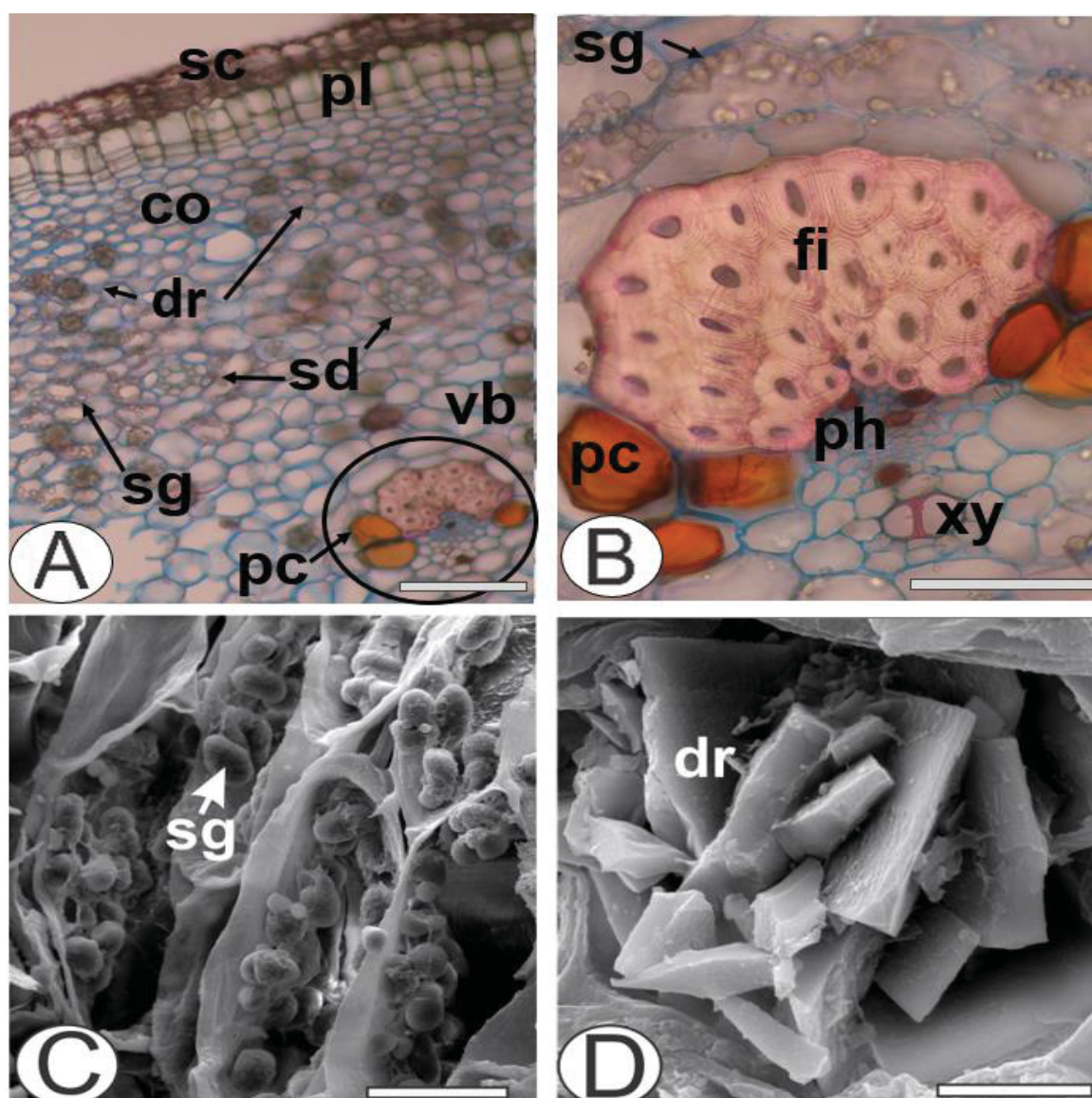


Caule em secção transversal.
FONTE: a autora, 2015.

Tenorio, Sakuragui e Vieira (2012) afirmaram que há uma grande diversidade anatômica nos caules do gênero *Philodendron*. Várias espécies de *Philodendron* mostraram córtex estratificado, como *P. appendiculatum*, *P. eximium*, *P. cordatum*, *Philodendron ornatum* Schott e *Philodendron adamantium* Mart. Ex Schott. No entanto, em *P. scandens* e *Philodendron fragratissimum* (Hook.) G.Don a epiderme é persistente, com uma cutícula espessa, e em *Philodendron propinquum* Schott e *Philodendron longistilum* K.Krause foi encontrada a epiderme papilosa.

Em *P. meridionale* os feixes vasculares e traços foliares estão espalhados no parênquima cortical, como característico de monocotiledôneas. Uma calota de fibras esclerenquimáticas bem desenvolvidas pode ser encontrada adjacente ao floema (FIGURA 18B). Em algumas espécies de *Philodendron*, como *P. eximium* e *Philodendron pinnatilobum* Engl, a bainha fibrosa nos feixes vasculares não foi observada (TENORIO; SAKURAGUI; VIEIRA, 2012).

FIGURA 18: *Philodendron meridionale*, ANATOMIA DO CAULE



Caule em transecção. A. Organização mostrando córtex estratificado (sc), colênquima (co), drusas (dr), felogênio (pl), compostos fenólicos (pc), ductos secretórios (sd), grãos de amido (sg) e feixe vascular (vb). B. Detalhe de fibras (fi), compostos fenólicos (pc), floema (ph), grãos de amido (sg) e xilema (xy). C. Detalhe de grãos de amido (sg) em MEV. D. Detalhe das drusas (dr) em MEV. Escala = 20µm (C, D), 50µm (B); 200 µm (A)

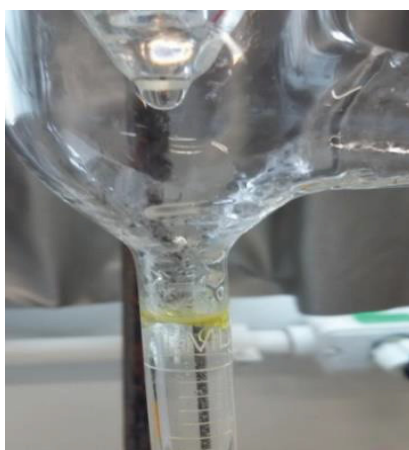
FONTE: a autora, 2015.

Neste estudo, os compostos fenólicos (FIGURAS 18A, 18B) foram observados junto aos feixes vasculares e traços foliares e reagiram ao cloreto férrico nas análises microquímicas. Várias drusas (FIGURA 18D) e algumas ráfides com as mesmas características previamente registradas para o pecíolo foram observadas no caule, especialmente no córtex. Existem traços foliares e feixes vasculares no cilindro central. Tenorio, Sakuragui e Vieira (2012) afirmaram que essas características podem ser distinguidas pela presença de protofloema e metaxilema nos traços foliares e pelo metafloema e metaxilema no feixe vascular. Esses autores também afirmaram que traços foliares e feixes vasculares são comuns em espécies de *Philodendron*, especialmente quando estão espalhados no cilindro central.

4.3 ÓLEO ESSENCIAL

Ambos os óleos essenciais, obtidos de caules e folhas de *P. meridionale*, apresentaram densidade menor que a da água, coloração amarela (FIGURA 19) e odor similar, forte e característico, com um rendimento calculado sobre a massa do material seco, de 0,07% (v/m) \pm 0,036 para folhas e 0,081% (v/m) \pm 0,013 para os caules.

FIGURA 19: ASPECTO DO ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS DE *Philodendron meridionale* EM PROCESSO DE HIDRODESTILAÇÃO EM APARELHO CLEVANGER



FONTE: a autora, 2015.

A análise química em CG-MS do óleo essencial de folhas, demonstrou que o mesmo é constituído por pequena concentração de monoterpenos e triterpenos, 55,22% de sesquiterpenos e 41,34% de diterpenos, com prevalência em ambos os

casos por hidrocarbonetos. Em relação a composição química do óleo essencial extraído dos caules observou-se a presença de 53,77% de sesquiterpenos e 39,6% de diterpenos, também com prevalência de hidrocarbonetos, sendo que não foram observados monoterpenos e triterpenos. As classes químicas identificadas nas amostras de óleo essencial de *P. meridionale*, incluindo suas porcentagens, estão sumarizadas na (TABELA 7).

Ottobelli et al. (2011) ao estudarem a constituição do óleo essencial dos cipós de *P. scabrum* identificaram a presença de 9,63% de monoterpenos e 82,11% de sesquiterpenos. Castellar et al. (2013) encontraram no óleo essencial de raízes de *P. fragrantissimum* a presença de 24,3% de monoterpenos e 72,6% de sesquiterpenos, enquanto Santiago et al. (2014), registraram 91,6% de sesquiterpenos e apenas 3,7% de monoterpenos em *P. bipinnatifidum*. Nesta pesquisa, além de sesquiterpenos, observou-se a presença de diterpenos o qual não foi citado até o momento para outras plantas do gênero, entretanto os monoterpenos não tiveram uma concentração significativa.

TABELA 7: CLASSIFICAÇÃO QUÍMICA E PERCENTUAIS DE TERPENOS ENCONTRADOS NO ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS E DE CAULES DE *Philodendron meridionale*.

COMPONENTES AGRUPADOS	ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS (%)	ÓLEO ESSENCIAL DE CAULES (%)
Hidrocarbonetos monoterpênicos	0,16	0,0
Monoterpenos oxigenados	0,90	0,0
TOTAL DE MONOTERPENOS	1,06	0,0
Hidrocarbonetos sesquiterpênicos	50,07	45,36
Sesquiterpenos oxigenados	5,15	8,41
TOTAL DE SESQUITERPENOS	55,22	53,77
Hidrocarbonetos Diterpênicos	39,94	36,02
Diterpenos oxigenados	1,40	3,58
TOTAL DE DITERPENOS	41,34	39,6
Hidrocarbonetos Triterpênicos	0,28	0,0
Triterpenos oxigenados	0,00	0,0
TOTAL DE TRITERPENOS	0,28	0,0

FONTE: a autora, 2015.

Monoterpenos e sesquiterpenos são compostos de menor peso molecular e, portanto, de maior volatilidade, sendo característicos de óleos essenciais, enquanto diterpenos, por apresentarem maior peso molecular, caracterizam-se por serem menos voláteis, o que é característico de resinas. Esse fato, nos leva a sugerir que o óleo essencial obtido de *P. meridionale* seja também caracterizado como óleo-resina, assim como foi observado com os óleos-resina do gênero *Copaifera* L., por

ser um exudato constituído por ácidos resinosos e compostos voláteis (VEIGA JUNIOR; PINTO, 2002) e do gênero *Eperua* Aublet, com grande quantidade de diterpenos (LEANDRO; VEIGA JUNIOR, 2012).

Não há diferença significativa na proporção de sesquiterpenos e de diterpenos entre a amostra obtida de folhas e amostra obtida de caules de *P. meridionale*, no entanto, se considerarmos a composição, verificamos que há diferenças entre os constituintes de cada classe, sendo treze substâncias comuns encontradas nas duas amostras, incluindo os componentes majoritários de cada uma.

Na metodologia para separação dos compostos do óleo essencial de *P. meridionale* foram consideradas as resoluções dos cinquenta picos predominantes na amostra obtida da extração 1 (folhas) e vinte e oito picos na amostra obtida da extração 2 (caules), cujas substâncias foram identificadas através da análise por CG-MS e são apresentadas na (TABELA 8).

TABELA 8: COMPOSIÇÃO QUÍMICA (%) DO ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS E DE CAULES DE *Philodendron meridionale*.

IR	FÓRMULA MOLECULAR	COMPOSIÇÃO	continua	
			ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS (%)	ÓLEO ESSENCIAL DE CAULES (%)
8,534	C ₁₀ H ₁₆	D- Limonene	0,16	
10,883	C ₁₀ H ₁₈ O	Linalol	0,77	
10.907	C ₁₁ H ₁₈ O ₂	Formiato de linalol		1,50
16.192	C ₁₀ H ₁₆ O	Pulegona	0,13	
18.936	C ₁₁ H ₂₂ O	2-Undecanone	0,10	
21.366	C ₁₅ H ₂₄	α-Elemene	0,19	
22.762	C ₁₅ H ₂₄	Cyclosativene	0,70	
23.100	C ₁₅ H ₂₄	Copaene	0,82	
23.677	C ₁₅ H ₂₄	β-Elemene	1,29	
24.533	C ₁₅ H ₂₄	α-Gurjunene	14,47	6,73
24.803	C ₁₅ H ₂₄	(Z)-Cariofileno	2,49	0,74
25.223	C ₁₅ H ₂₄	β-Cubebene	0,54	
25.397	C ₁₅ H ₂₄	β- Gurjunene	0,20	
25.627	C ₁₅ H ₂₄	α.-Bergamotene	0,92	0,50
25.763	C ₁₅ H ₂₄	β-Sesquisabinene	0,21	
26.173	C ₁₅ H ₂₄	α- Cariofileno	2,80	1,29
26.397	C ₁₅ H ₂₄	β-Sesquiphellanderene	0,12	
26.487	C ₁₅ H ₂₄	iso-Cariofileno	1,18	0,61
27.127	C ₁₅ H ₂₄	β-Murolene	0,46	0,41
27.267	C ₁₅ H ₂₄	β-copaene	8,45	
27.280	C ₁₅ H ₂₄	D-Germacrene		5,59
27.637	C ₁₃ H ₂₆ O	2-Tridecanone		5,11
27.650	C ₁₅ H ₂₄	α.-Guaieno	2,04	
27.790	C ₁₅ H ₂₄	α Cubebene	0,13	
27.923	C ₁₅ H ₂₄	Biciclogermacrene	6,34	4,51

IR: Índice de Retenção

TABELA 8: COMPOSIÇÃO QUÍMICA (%) DO ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS E DE CAULES DE *Philodendron meridionale*.

IR	FÓRMULA MOLECULAR	COMPOSIÇÃO	conclusão	
			ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS (%)	ÓLEO ESSENCIAL DE CAULES (%)
28.100	C ₁₅ H ₂₄	α.-Muurolene	0,42	
28.133	C ₁₅ H ₂₆ O	Δ - Cadinol		0,64
28.577	C ₁₅ H ₂₄	γ.-Muurolene	0,75	0,71
28.990	C ₁₅ H ₂₄	δ- Cadinene	2,13	2,32
29.567	C ₁₅ H ₂₄	α-Amorphene	0,15	
30.447	C ₁₅ H ₂₄	β.-Farnesene	2,86	17,12
30.650	C ₁₅ H ₂₆ O	Ledol		5,76
30.643	C ₁₅ H ₂₆ O	Palustrol	2,68	
30.780	C ₁₅ H ₂₄ O	Spathulenol	0,72	
30.803	C ₁₅ H ₂₂	Eudesma-1,4(15),11-triene		2,59
31.180	C ₁₅ H ₂₄	Aromandendrene	0,23	
31.467	C ₁₅ H ₂₄	Viridiflorene	0,18	
31.913	C ₁₅ H ₂₆ O	(-)-Globulol	0,82	
31.927	C ₁₅ H ₂₄	Cycloheptane, 4-methylene-1- methyl-2-(2-methyl-1-propen-1-yl)- 1-vinyl-		0,86
33.303	C ₁₇ H ₂₈ O ₂	Acetato tau.-Cadinol	0,82	
33.317	C ₁₅ H ₂₄	γ-Gurjunene		1,38
33.453	C ₁₅ H ₂₆ O	Cubebol	0,23	1,45
33.760	C ₁₅ H ₂₆ O	tau.-Cadinol	0,62	
34.947	C ₁₅ H ₂₆ O	trans-hidrato de Sesquisabinene	0,08	
35.660	C ₁₅ H ₃₀ O	2- Pentadecanone		0,56
36.370	C ₂₀ H ₃₂	α-Springene	0,13	1,49
41.067	C ₁₈ H ₃₆ O	Hexahidrofarnesil acetona	0,11	
41.343	C ₂₀ H ₃₈	Neofitadieno		1,69
43.960	C ₂₀ H ₃₂	Cis-Biformene	4,01	
43.970	C ₂₀ H ₃₄ O	(E)-3-Methyl-5-((1R,4aR,8aR)- 5,5,8a-trimethyl-2- methylenedecahydronaphthale		2,96
44.487	C ₂₀ H ₃₂	Rimuene	6,34	5,08
44.910	C ₃₈ H ₆₈ O ₈	L-Ácido ascórbico 2,6- dihexadecanoate	0,15	
45.050	C ₂₀ H ₃₂	Hibaene	0,45	
45.243	C ₂₀ H ₃₄ O	Verticiol	1,40	
45.257	C ₂₀ H ₃₂	Fillocladene		1,08
45.757	C ₂₀ H ₃₂	Trans-Biformene	6,85	
46.597	C ₂₀ H ₃₂	Cembrene	0,56	5,22
46.607	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	(E)-Labda-8(17),12-diene-15,16- dial		0,62
47.193	C ₂₀ H ₃₂	Atiserene	0,31	
47.360	C ₂₀ H ₃₂	Ent-kaur-16-ene	20,78	21,46
55.570	C ₂₀ H ₄₂	Elicosane	0,51	
55.650	C ₂₈ H ₅₇ I	Octacosane, 1-iodo	0,93	
62.033	C ₃₀ H ₅₀	Squalene	0,28	

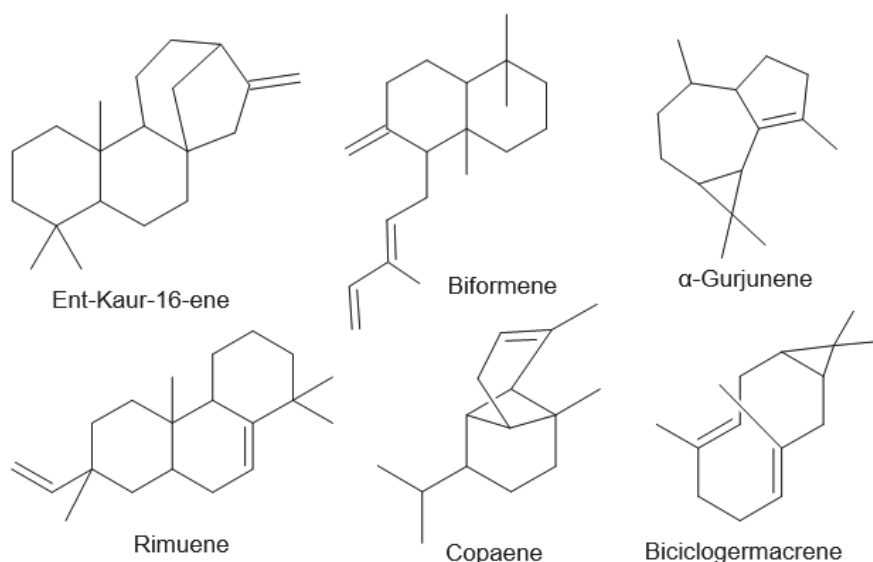
IR: Índice de Retenção

Alguns terpenos (elemene, copaene, gurjunene, cariofilene, cubebene, sesquisabinene, muurolene, germacrene, cadinol e biformene) foram identificados

em mais de uma apresentação estereoquímica (TABELA 8), o que evidencia a produção de compostos advindos de uma mesma rota metabólica, mas que muitas vezes, agem fisiologicamente como compostos diferentes, considerando que a atividade biológica normalmente é dependente da configuração quiral do composto (HENRIQUES; DANIELLI; APEL, 2016).

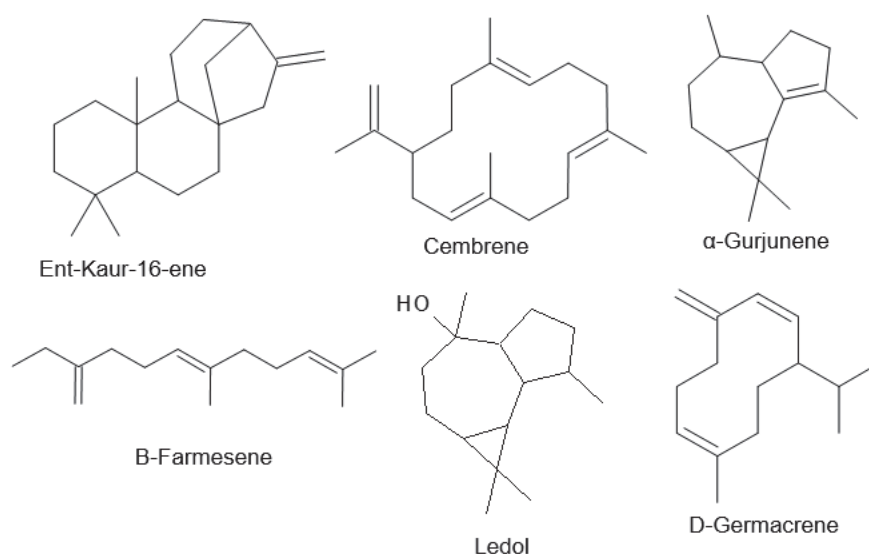
Os componentes majoritários encontrados no óleo essencial de folhas de *P. meridionale* são os diterpenos Ent-kaur-16-ene (20,78%), Trans-Biformene (6,85%) e Rimuene (6,34%), e os sesquiterpenos α -Gurjunene (14,47%), β .-copaene (8,45%) e Biciclogermacrene (6,34%). No óleo essencial obtido dos caules de *P. meridionale* também foi encontrado como componente majoritário o diterpeno Ent-kaur-16-ene (21,46%), além de Cembrene (5,22%), e os sesquiterpenos β .-Farnesene (17,12%), α -Gurjunene (6,73%), Ledol (5,76%) e D-Germacrene (5,59%). As estruturas químicas dos principais componentes majoritários são apresentadas nas (FIGURAS 20, 21).

FIGURA 20: ESTRUTURA QUÍMICA DOS COMPONENTES MAJORITÁRIOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS DE *Philodendron meridionale*.



FONTE: a autora, 2015.

FIGURA 21: ESTRUTURA QUÍMICA DOS COMPONENTES MAJORITÁRIOS DO ÓLEO ESSENCIAL DE CAULES DE *Philodendron meridionale*.



FONTE: a autora, 2015.

Ao compararmos os dados da literatura sobre a composição do óleo essencial de plantas do gênero *Philodendron* (TABELA 1) com o presente estudo, observou-se que os componentes químicos limonene, farnesene e copaene, também foram encontrados em demais espécies do gênero, e o componente cariofilene (em suas diferentes apresentações estereoquímicas) foi encontrado em todas as espécies cujo óleo essencial foi estudado até o momento (VIANA; ANDRADE-NETO; POULIQUEN, 2002; BEZERRA et al., 2002; OTTOBELLI et al., 2011; CASTELLAR et al., 2013; SANTIAGO et al., 2014; BACCHUS et al., 2015; SILVA et al., 2016; JOFFARD et al., 2017). O composto D-germacrene também foi observado por Silva et al. (2016) em *P. maximum*, por Joffard et al. (2017) em *P. melinonii* e em *P. fragrantissimum*. Não foram observadas outras semelhanças entre os constituintes químicos dos óleos essenciais de *P. meridionale* com outras espécies do gênero, incluindo o composto majoritário Ent-kaur-16-ene.

4.4 EXTRATOS

A massa de extrato bruto e o rendimento obtido a partir de folhas e de caules de *P. meridionale* são apresentados na (TABELA 9).

TABELA 9: MASSA E RENDIMENTO DOS EXTRATOS BRUTOS DE *Philodendron meridionale*

EXTRATO BRUTO	MASSA (g)	RENDIMENTO (%)
ECF	199,62	14,1074
EEF	86,60	6,8406
ECC	64,149	4,6812
EEC	28,695	4,8072

Sendo: ECF: Extrato Cetônico da Folha; EEF: Extrato Etanólico da Folha; ECC: Extrato Cetônico do Caule; EEC: Extrato Etanólico do Caule.

FONTE: a autora, 2014.

Os rendimentos das frações em relação à quantidade de extratos brutos obtidos estão apresentados na (TABELA 10). Em geral as frações hexânicas foram as que apresentaram maior rendimento e as frações particionadas com AcEt foram as que apresentaram menor rendimento.

TABELA 10: MASSA E RENDIMENTO DAS FRAÇÕES OBTIDAS EM RELAÇÃO AOS EXTRATOS BRUTOS DE *Philodendron meridionale*

FOLHA				CAULE			
EXTRATOS/ FRAÇÕES		MASSA (g)	RENDIMENTO (%)	EXTRATOS/ FRAÇÕES		MASSA (g)	RENDIMENTO (%)
ECF	FrH-CF	67,150	33,6420	ECC	FrH-CC	25,760	40,1574
	FrD-CF	12,153	6,0882		FrD-CC	3,999	6,2354
	FrAc-CF	1,529	0,7662		FrAc-CC	2,704	4,2161
	FrR-CF	3,076	1,5414		FrR-CC	13,827	21,5548
FOLHA				CAULE			
EXTRATOS/ FRAÇÕES		MASSA (g)	RENDIMENTO (%)	EXTRATOS/ FRAÇÕES		MASSA (g)	RENDIMENTO (%)
EEF	FrH-EF	27,082	31,2728	EEC	FrH-EC	5,325	18,5572
	FrD-EF	21,899	25,2878		FrD-EC	5,069	17,6650
	FrAc-EF	9,288	10,7252		FrAc-EC	2,497	8,7018
	FrR-EF	20,506	23,6801		FrR-EC	6,9752	24,3080

Sendo: ECF: Extrato Cetônico da Folha; EEF: Extrato Etanólico da Folha; ECC: Extrato Cetônico do Caule; EEC: Extrato Etanólico do Caule. FrH-CC: Fração Hexano do Extrato Cetônico do Caule; FrD-CC: Fração DCM do Extrato Cetônico do Caule; FrAc-CC: Fração AcEt do Extrato Cetônico do Caule; FrR-CC: Fração Residual do Extrato Cetônico do Caule; FrH-EC: Fração Hexano do Extrato Etanólico do Caule; FrD-EC: Fração DCM do Extrato Etanólico do Caule; FrAc-EC: Fração AcEt do Extrato Etanólico do Caule; FrR-EC: Fração Residual do Extrato Etanólico do Caule.

FONTE: a autora, 2014.

4.4.1 Screening fitoquímico dos Extratos Brutos (ECF, EEF, ECC, EEC) por CCD e por reações específicas

A análise fitoquímica por CCD dos extratos de *P. meridionale* demonstrou a presença de alguns grupos de substâncias como os flavonoides, esteroides/terpenos, taninos, cumarinas e antraquinonas, com resultados mais expressivos para esteroides/terpenos, taninos e flavonoides. Não foram observados alcaloides. Os resultados obtidos para as folhas foram similares aos resultados

obtidos para os caules, diferindo apenas quanto à presença de antraquinonas que não foram observadas no extrato ECF e sim nos extratos EEF, ECC, EEC, e de cumarinas que só foram observadas nos extratos etanólicos (ECF e ECC). Os resultados obtidos através do screening fitoquímico dos extratos brutos (ECF, EEF, ECC, EEC) por CCD estão apresentados na (TABELA 11).

TABELA 11: METABÓLITOS SECUNDÁRIOS IDENTIFICADOS EM FOLHAS E CAULES DE *Philodendron meridionale*, EM ANÁLISE POR CCD.

FOLHA	ECF				EEF			
METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	FRAÇÕES				FRAÇÕES			
	FrH-CF	FrD-CF	FrAc-CF	FrR-CF	FrH-EF	FrD-EF	FrAc-EF	FrR-EF
Esteroides e Terpenos	+	+	-	-	+	+	-	-
Alcaloides	-	-	-	-	-	-	-	-
Flavonoides	-	+	+	+	-	+	+	+
Taninos	-	-	+	+	-	-	+	+
Cumarinas	-	+	-	-	-	-	-	-
Antraquinonas	-	-	-	-	-	-	+	+
CAULE	ECC				EEC			
METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	FRAÇÕES				FRAÇÕES			
	FrH-CC	FrD-CC	FrAc-CC	FrR-CC	FrH-EC	FrD-EC	FrAc-EC	FrR-EC
Esteroides e Terpenos	+	+	-	-	+	+	-	-
Alcaloides	-	-	-	-	-	-	-	-
Flavonoides	-	-	+	+	-	-	+	+
Taninos	-	-	+	+	-	-	+	+
Cumarinas	-	+	-	-	-	-	-	-
Antraquinonas	-	-	-	+	-	-	+	+

Sendo: ECF: Extrato Cetônico da Folha; EEF: Extrato Etanólico da Folha; ECC: Extrato Cetônico do Caule; EEC: Extrato Etanólico do Caule. FrH-CC: Fração Hexano do Extrato Cetônico do Caule; FrD-CC: Fração DCM do Extrato Cetônico do Caule; FrAc-CC: Fração AcEt do Extrato Cetônico do Caule; FrR-CC: Fração Residual do Extrato Cetônico do Caule; FrH-EC: Fração Hexano do Extrato Etanólico do Caule; FrD-EC: Fração DCM do Extrato Etanólico do Caule; FrAc-EC: Fração AcEt do Extrato Etanólico do Caule; FrR-EC: Fração Residual do Extrato Etanólico do Caule.

Nota: + = resultado positivo e - = resultado negativo

FONTE: a autora, 2014.

O screening fitoquímico por CCD é de fundamental importância no conhecimento dos grupos de metabólitos secundários em extratos vegetais, sendo utilizados normalmente como precursores dos processos de separação, como a CC, para obtenções de compostos isolados, purificados e identificados.

Foi observada a formação de espuma intensa e persistente em todos os extratos, indicando a presença de saponinas na droga vegetal. As saponinas são glicosídeos de esteroides ou de terpenos policíclicos. Esse tipo de estrutura possui uma parte com característica lipofílica (triterpeno ou esteroide) e outra parte hidrofílica (açúcares), o que determina a propriedade de redução da tensão superficial da água e suas ações detergentes (SOARES, 2013), e que caracteriza a formação da espuma.

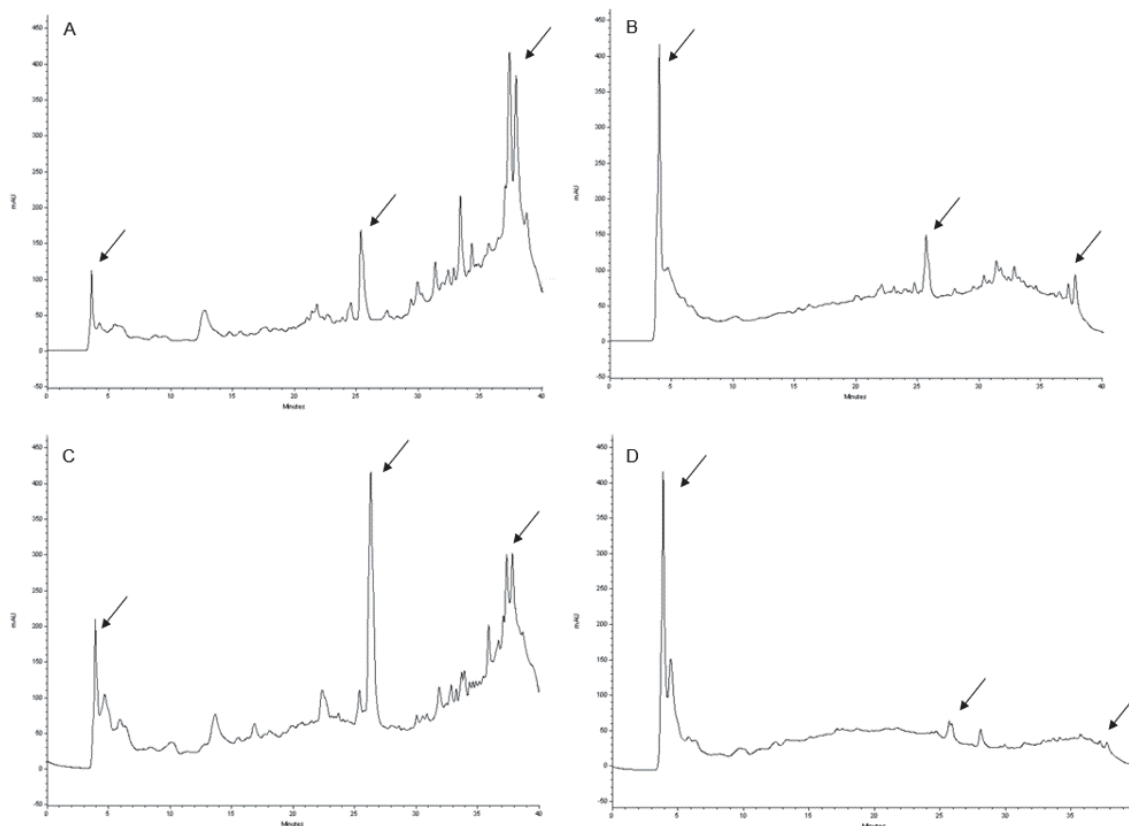
No gênero *Philodendron*, as saponinas foram também identificadas por Reis; Guimarães e Toma (2017) em *P. bipinnatifidum* e Muelas-Serrano et al. (2000) atribuem a ação antiprotozoária contra *Trypanosoma cruzi* e *Trichomonas vaginalis* de *P. bipinnatifidum* a saponinas.

As saponinas podem ser citotóxicas atuando sobre células tumorais (SCHENKEL; GOSMANN; ATHAYDE, 2007), além de apresentarem atividade hemolítica, anti-inflamatória, antifúngica e antiparasitária (REIS; GUIMARÃES; TOMA, 2017). Apresentam funções como regulação do crescimento e na defesa contra insetos e patógenos, o que revela a importância desses compostos na adaptação e sobrevivência vegetal (PEREIRA; CARDOSO, 2012). Silva (2004) associa as saponinas aos efeitos alelopáticos provocados a outros vegetais.

4.4.2 Screening fitoquímico dos Extratos Brutos (ECF, EEF, ECC, EEC) por CLAE

O perfil cromatográfico dos extratos brutos foi analisado em 284 nm, comprimento de onda em que a maioria dos picos cromatográficos apresentou maior intensidade. Através da análise dos cromatogramas é possível verificar uma similaridade entre os extratos (ECF e ECC) (FIGURAS 22A, 22C) com variações na intensidade dos picos cromatográficos. Nos extratos (EEF e EEC) (FIGURAS 22B, 22D), a similaridade também foi observada, no entanto, houve menor produção de picos cromatográficos para este comprimento de onda. A variação na intensidade dos picos cromatográficos, para um mesmo tempo de retenção, demonstra que as mesmas substâncias (setas FIGURAS 22A, 22B, 22C, 22D) foram encontradas em caules e folhas, tendo sido extraídas por solventes diferentes (ECF, EEF, ECC e EEC), embora que, em diferentes concentrações.

FIGURA 22: PERFIL CROMATOGRÁFICO POR CLAE PARA OS EXTRATOS BRUTOS (ECF, EEF, ECC, EEC) DE *Philodendron meridionale*



Perfil Cromatográfico a 284 nm. A. ECF; B. EEF; C. ECC; D. EEC. Sendo: ECF: Extrato Cetônico da Folha; EEF: Extrato Etanólico da Folha; ECC: Extrato Cetônico do Caule; EEC: Extrato Etanólico do Caule.

FONTE: a autora, 2018.

A similaridade do perfil cromatográfico justifica os resultados biológicos semelhantes obtidos neste trabalho, para caules e folhas, uma vez que a composição química determina as ações biológicas do composto.

4.4.3 Análise de fenólicos totais e flavonoides

A existência de compostos fenólicos em *P. meridionale* foi evidenciada primeiramente através de CCD, onde foram identificados cumarinas e taninos, e na realização da análise morfoanatômica, onde os mesmos foram observados junto aos feixes vasculares e traços foliares.

As concentrações de compostos fenólicos e de flavonoides, nos extratos brutos de *P. meridionale*, estão apresentadas na (TABELA 12).

TABELA 12: CONCENTRAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS E DE FLAVONOIDES EM EXTRATOS BRUTOS DE *Philodendron meridionale*

	COMPOSTOS FENÓLICOS	FLAVONOIDES
	Concentração equivalente a mg.g ⁻¹ de ácido gálico	Concentração equivalente a mg.g ⁻¹ de quercetina
ECF	225,12	52,74
EEF	240,45	54,31
ECC	193,28	72,74
EEC	265,14	67,21

Sendo: ECF: Extrato Cetônico da Folha; EEF: Extrato Etanólico da Folha; ECC: Extrato Cetônico do Caule; EEC: Extrato Etanólico do Caule.

FONTE: a autora, 2015.

Segundo Chew et al. (2011), a quantidade de compostos fenólicos em plantas pode ser classificada em 4 categorias, quando comparada à concentração de ácido gálico, sendo: alta (> 50 mg.g⁻¹), média alta (30 - 50 mg.g⁻¹), média baixa (10 - 30 mg.g⁻¹) e baixa (<10 mg.g⁻¹). Desse modo, podemos afirmar que *P. meridionale* apresenta alta concentração de compostos fenólicos, embora não se constituam flavonoides em sua maioria. Quando os ensaios foram realizados com as frações FrAc-CC E FrAc-EC (aquelas que apresentaram melhor atividade antioxidante) obteve-se, respectivamente, em relação aos compostos fenólicos, concentrações equivalentes a 118,4 e 82,9 mg.g⁻¹ de ácido gálico, o que também implica em alta concentração, e em relação aos flavonoides 16,9 e 9,12 mg.g⁻¹ de quercetina.

Rongai et al. (2015) ao analisarem extratos aquosos de *P. crassinervium*, obtiveram um teor de polifenóis equivalente a 13,42 mg.g⁻¹ de ácido gálico, constituindo uma concentração média baixa, embora deva ser considerado que os métodos de extração foram diferentes, e quanto aos flavonoides 2,71 mg.g⁻¹ de rutina.

Moura et al. (2015), atribuem ao alto conteúdo fenólico e a taninos condensados e hidrolisáveis presentes nos extratos aquosos de *P. megalophyllum*, a inibição da hemorragia induzida pelo veneno de *Bothrops jararaca* Wied.

4.4.4 Extrato cetônico da folha (ECF) – fração (FrH-CF) - Identificação de compostos

A investigação química da fração hexano levou ao isolamento de uma mistura de compostos denominadas de **H-1, H-2, H-3, H-4, H-5 e H-6**. Da mistura **H-**

1 ocorreu a separação e o isolamento da substância **1**. Das demais misturas ocorreu a identificação de 28 compostos, nomeados de **2** a **29**.

A mistura **H-1** apresentou-se na forma de cristais brancos (77,4 mg) e a análise dos deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN ^1H e ^{13}C demonstrou a presença de graxa junto ao composto **1**. Após tratamento e separação da graxa, os dados obtidos em RMN foram comparados com os dados já existentes na literatura (BOOTH; EVERETT; FLEMING, 1979), o que permitiu sugerir que a substância isolada seja o monoterpene **p-mentane** (1-isopropil-4-metil-ciclohexano) cuja fórmula molecular foi determinada como $\text{C}_{10}\text{H}_{20}$.

A análise do espectro RMN de ^1H (FIGURA 24) apresentou sinal com deslocamento químico (δ) na região espectral 0,86 ppm na forma de dubleto (d) relativo aos hidrogênios da metila (H-2' e 3') com constante de acoplamento ($J = 7,0$ Hz) e na região espectral 0,97 ppm como dubleto para hidrogênios da metila (H-1'') com constante de acoplamento ($J = 6,6$ Hz). O ciclo hexânico contém hidrogênios ligados aos carbonos (C-2, 3, 4, 5 e 6), observados como multipletos em δ 1,06 (H-3 e 5); 1,51 (H-2 e 6); 1,61 (H-2 e 6); 1,72 (H-3 e 5) e 1,88 (H-4) ppm. O espectro de RMN ^{13}C (FIGURA 25) demonstrou os deslocamentos químicos em 11,5 referentes às metilas (C-2' e 3') e em 20,7 referente a outra metila (C-1'') ligada ao carbono 4 do ciclo. Devido a simetria, os carbonos apresentam equivalência em deslocamento químico, sendo que apenas quatro sinais foram observados para os carbonos do ciclo hexânico, sendo 25,3 ppm (C-2 e 6), 34,8 ppm (C-3 e 5), 34,7 (C-4) e 41,3 (C-1). A estrutura molecular do composto sugerido, p-mentane é apresentada na (FIGURA 23) e a (TABELA 13) mostra os deslocamentos de RMN de ^1H e de ^{13}C em comparação com a literatura.

FIGURA 23: ESTRUTURA QUÍMICA DO p-MENTANE

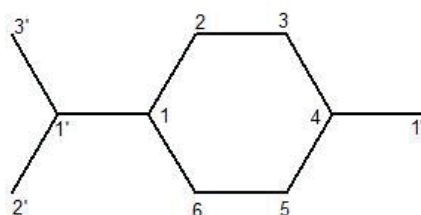
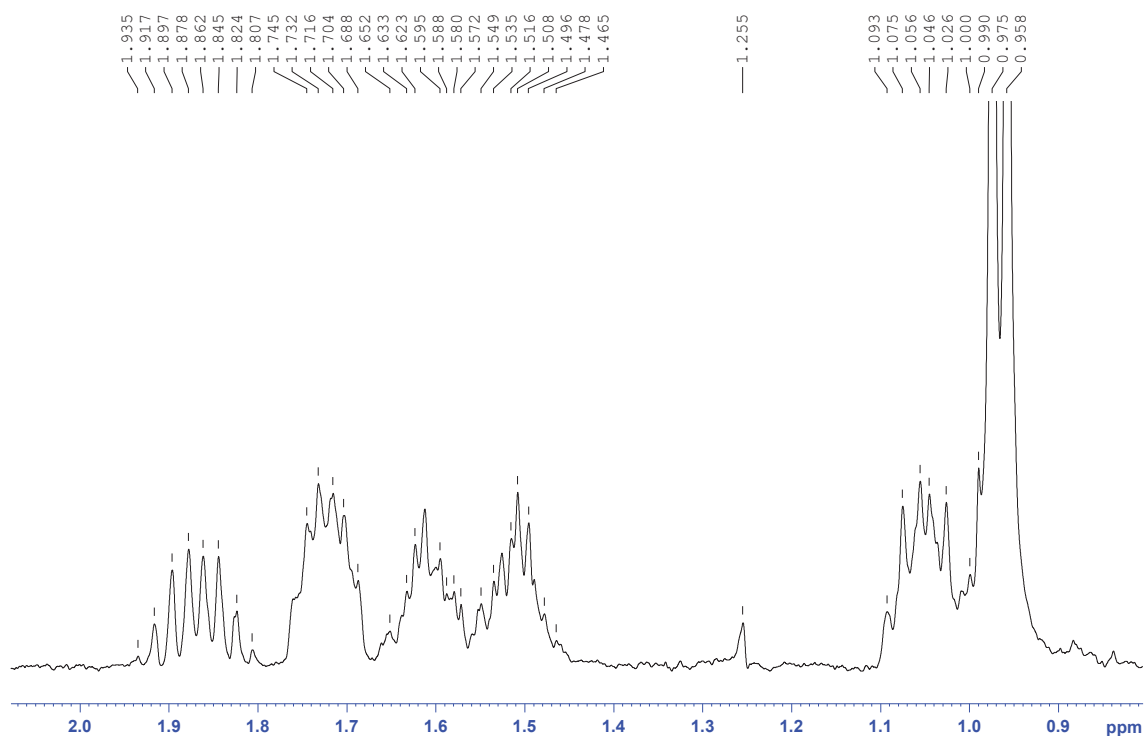
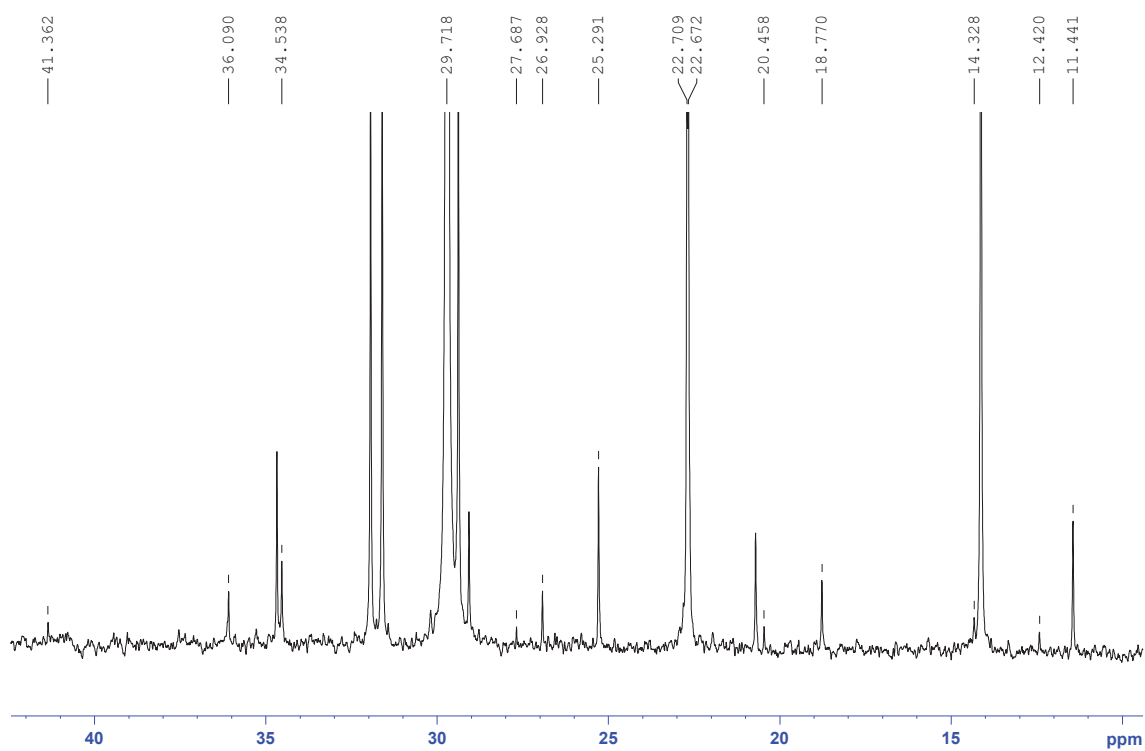


FIGURA 24: ESPECTRO DE RMN ^1H REGISTRADO PARA O COMPOSTO 1

FONTE: a autora, 2018.

FIGURA 25: ESPECTRO DE RMN ^{13}C REGISTRADO PARA O COMPOSTO 1

FONTE: a autora, 2018.

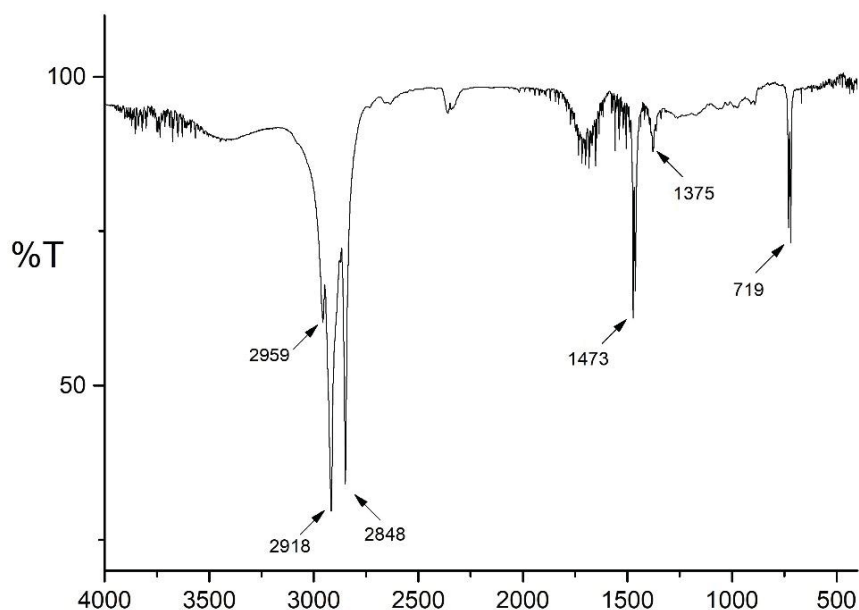
TABELA 13: DADOS DE RMN ^1H E ^{13}C PARA O COMPOSTO 1 E PARA O p-MENTANE

Posição	COMPOSTO 1 (a)		P-MENTANE (B)	
	^1H (ppm) (multiplicidade; J em Hz)	^{13}C (ppm)	^1H (ppm) (multiplicidade; J em Hz)	^{13}C (ppm)
1		41,3		44,0
2	1,51 1H, m 1,61 1H, m	25,3		29,6
3	1,06 1H, m 1,72 1H, m	34,8		35,3
4	1,88 1H, m	34,7		33,7
5	1,06 1H, m 1,72 1H, m	34,8		35,3
6	1,51 1H, m 1,61 1H, m	25,3		29,6
1'		31,8		33,0
2'	0,86 3H, d (7,0)	11,5		19,9
3'	0,86 3H, d (7,0)	11,5		19,9
1''	0,97 3H, d (6,6)	20,7		22,8

(a)- As atribuições de ^{13}C foram obtidas através da análise dos mapas de correlação por TOCSY. (b) - Comparação de ^{13}C (ppm) com a literatura (BOOTH; EVERETT; FLEMING, 1979). Não foram encontrados relatos na literatura para ^1H (ppm).

FONTE: a autora, 2018.

FIGURA 26: ESPECTRO DE IV REGISTRADO PARA O COMPOSTO 1



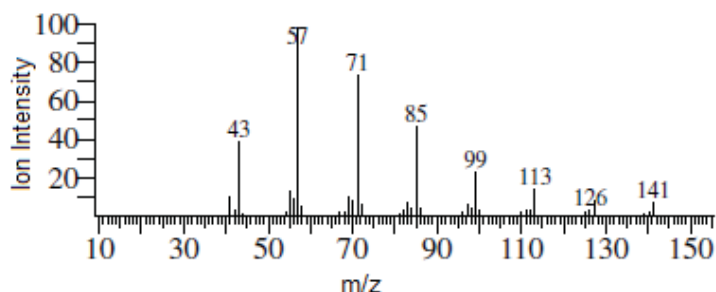
FONTE: a autora, 2017.

O espectro de absorção na região do infravermelho, em pastilhas de KBr (FIGURA 26), veio a confirmar as características do suposto composto, p-mentane, apresentando banda de deformação axial de C–H com deformação assimétrica em

2959 cm^{-1} ($\nu_{\text{as}}\text{CH}_3$) e 2918 cm^{-1} ($\nu_{\text{as}}\text{CH}_2$) e deformação simétrica em 2848 cm^{-1} ($\nu_{\text{s}}\text{CH}_2$). A ciclização diminui a frequência da vibração de deformação angular simétrica no plano de CH_2 , com absorção em 1473 cm^{-1} ($\delta_{\text{s}}\text{CH}_2$), enquanto que para a metila ($\delta_{\text{s}}\text{CH}_3$) está em 1375 cm^{-1} , e a banda de deformação assimétrica no plano de CH_2 aparece em 719 cm^{-1} .

No entanto, a espectrometria de massas é um dos métodos mais importantes para a caracterização de compostos naturais, pois mesmo se tratando de misturas, é possível obter e diferenciar diversas massas e suas fragmentações em íons com a identificação de compostos (ABU-REIDAH et al., 2015). Outra vantagem é a sua sensibilidade e consumo de pequena quantidade de amostra. Desse modo, com base nos dados obtidos pelo espectro de massas (CG/MS) modo positivo de ionização, o qual apresentou o íon molecular de m/z 141 $[\text{M} + \text{H}]^+$ (FIGURA 27), podemos caracterizar o composto **1** (p-mentane), cuja fórmula molecular é igual a $\text{C}_{10}\text{H}_{20}$.

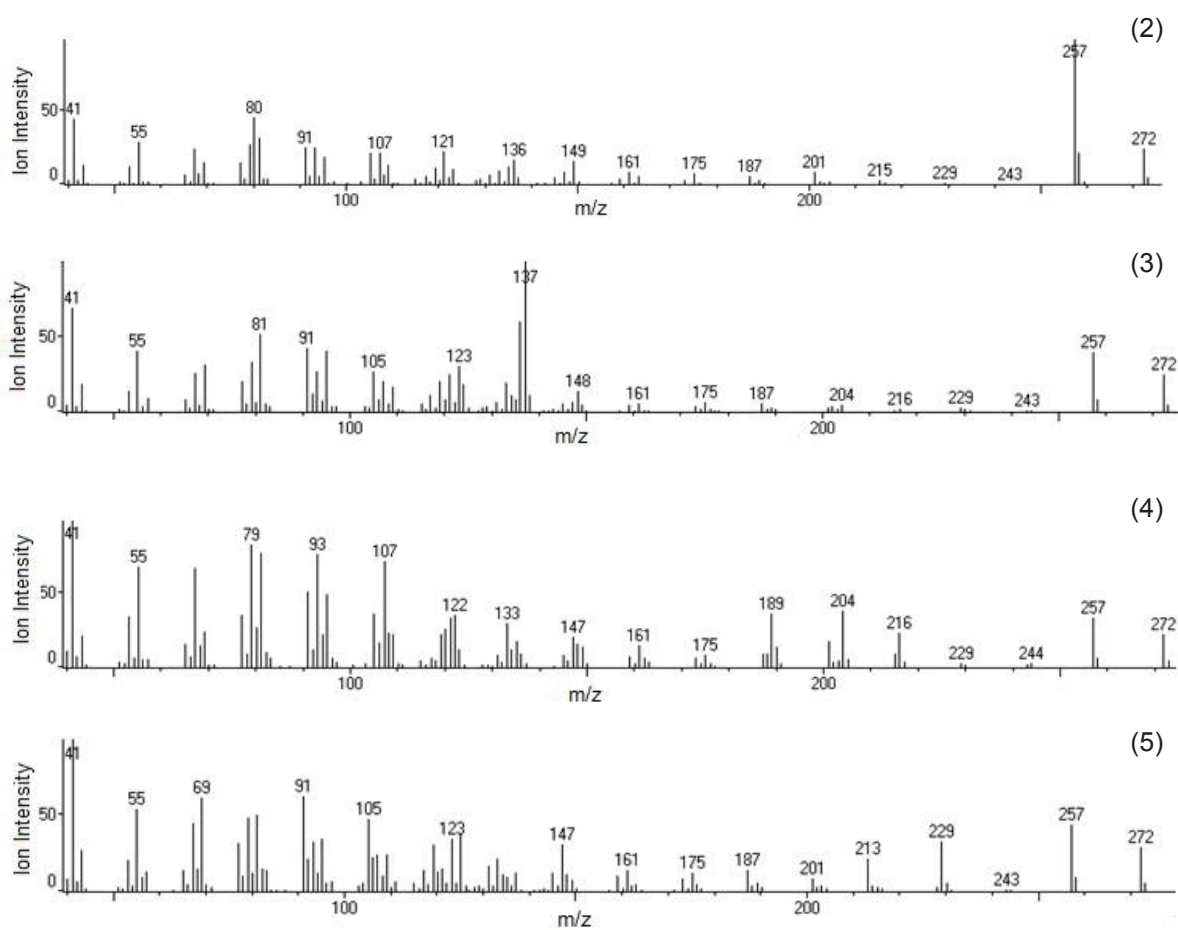
FIGURA 27: ESPECTRO DE MASSAS DO COMPOSTO 1



FONTE: a autora, 2017.

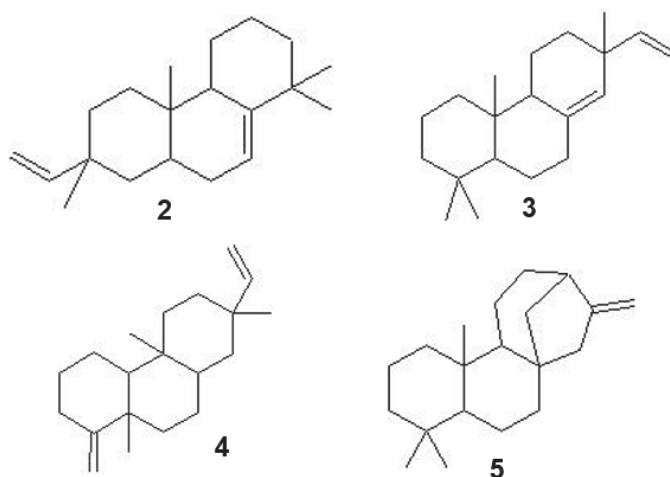
A mistura **H-2** apresentou-se na forma de cristais brancos (5,6 mg), da qual pode ser suposta a identificação de compostos diterpênicos: **2** (Rimuene – $\text{C}_{20}\text{H}_{32}$), **3** (Pimaradiene – $\text{C}_{20}\text{H}_{32}$), **4** (Dolabradiene – $\text{C}_{20}\text{H}_{32}$) e **5** (Ent-kaur-16-ene – $\text{C}_{20}\text{H}_{32}$). Os espectros de massas das substâncias presentes na mistura **H-2** são demonstrados na (FIGURA 28), enquanto as estruturas químicas estão demonstradas na (FIGURA 29).

FIGURA 28: ESPECTROS DE MASSAS DOS COMPOSTOS 2, 3, 4 E 5

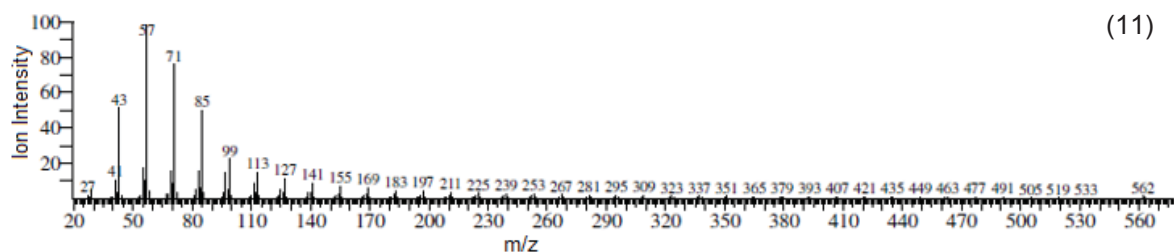
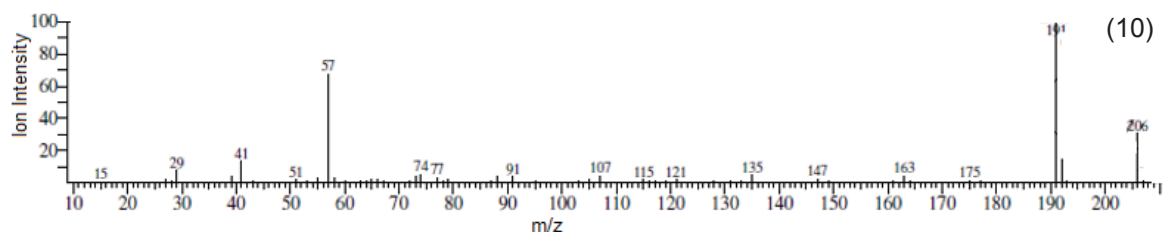
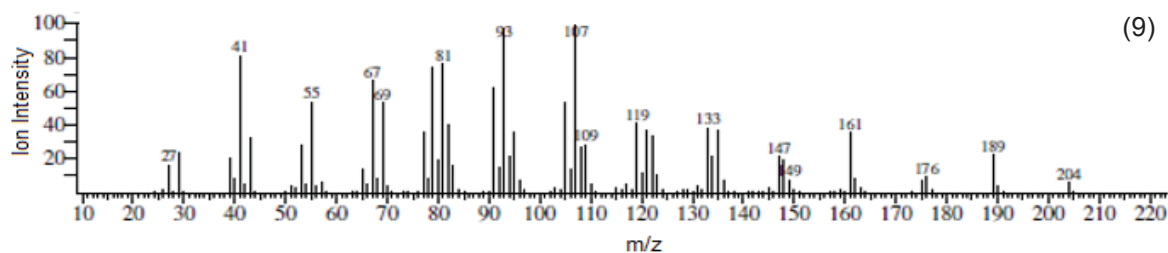
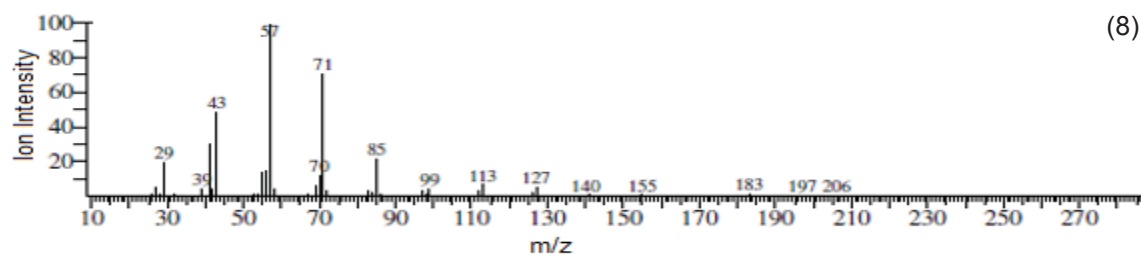
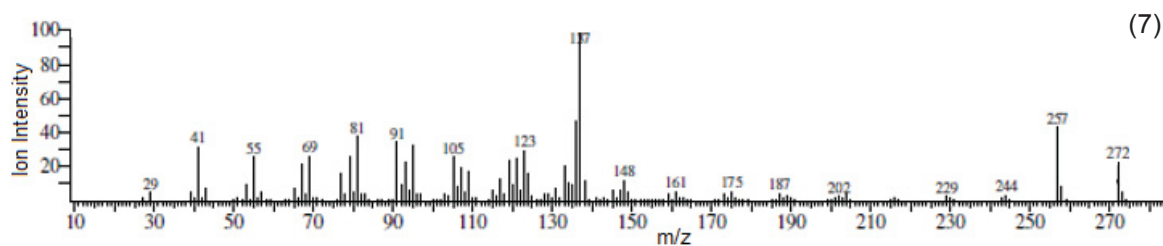
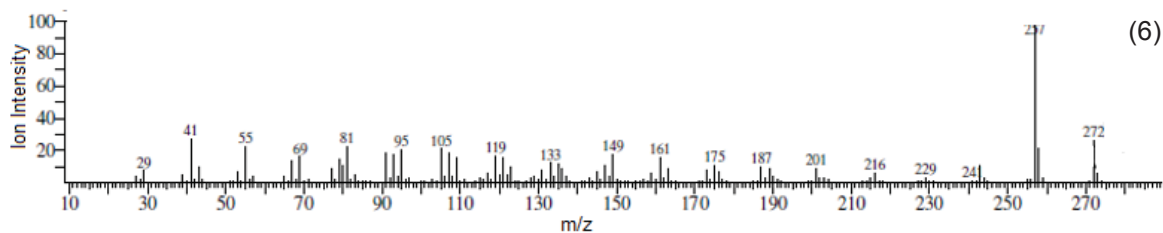


Sendo: 2: Rimuene; 3: Pimaradiene; 4: Dolabradene; 5: Ent-kaur-16-ene
 FONTE: a autora, 2018.

FIGURA 29: ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS NOMEADAS COMO 2, 3, 4 E 5, IDENTIFICADAS NA MISTURA H-2 DA FRAÇÃO (FrH-CF)



Sendo: 2: Rimuene; 3: Pimaradiene; 4: Dolabradene; 5: Ent-kaur-16-ene
 FONTE: a autora, 2018.

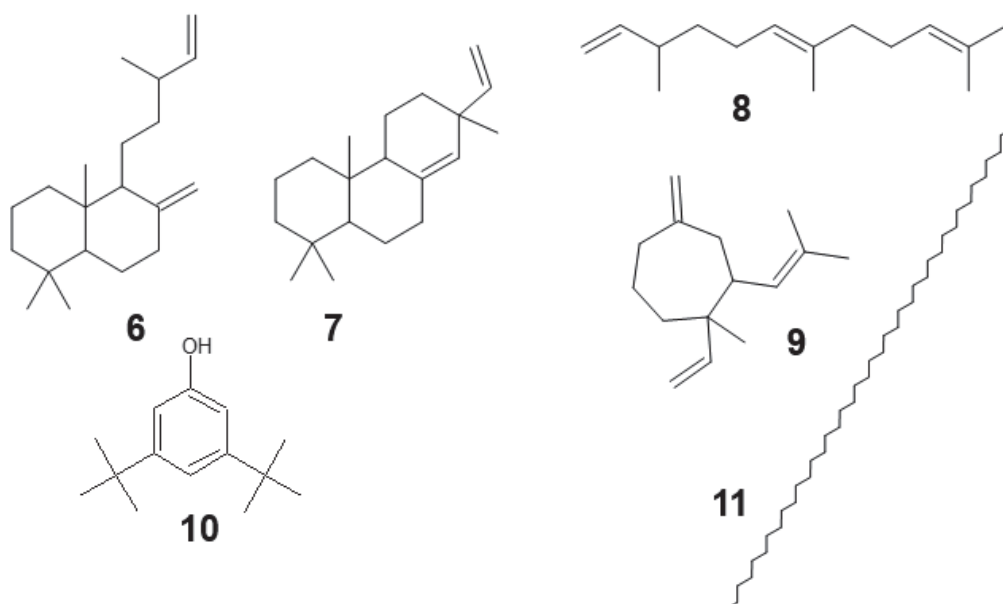
FIGURA 30: ESPECTROS DE MASSAS DOS COMPOSTOS **6, 7, 8, 9, 10 E 11**

Sendo: 6: Naftalene, 1,1,4 trimetil -6 metilene - 5(3 metilene-4pentenil); 7: Fenentrene, 7 etenil – 1,1,4, trimetil; 8: Farnesene; 9: 1 Metil – 4 metilene -2 (2 metil – 1 propenil) 1 vinilcicloheptano; 10: Fenol 3,5 di tercbutil; 11: Tetracontane

FONTE: a autora, 2018.

Um pó amarelado (327 mg), constitui a mistura **H-3**, da qual pode ser suposta a identificação de seis compostos: **6** (Naftalene, 1,1,4 trimetil -6 metilene - 5(3 metilene-4pentenil) – $C_{20}H_{32}$), **7** (Fenentrene, 7 etenil – 1,1,4,7 tetrametil – $C_{20}H_{32}$), **8** (Farnesene – $C_{15}H_{26}$), **9** (1 metil – 4 metilene -2 (2 metil – 1 propenil) 1 vinilcicloheptano– $C_{20}H_{32}$) **10** (Fenol 3,5 di tercbutil – $C_{14}H_{22}O$) **11** (Tetracontane – $C_{40}H_{82}$). Os espectros de massas das substâncias presentes na mistura **H-3** são demonstrados na (FIGURA 30), enquanto as estruturas químicas estão demonstradas na (FIGURA 31).

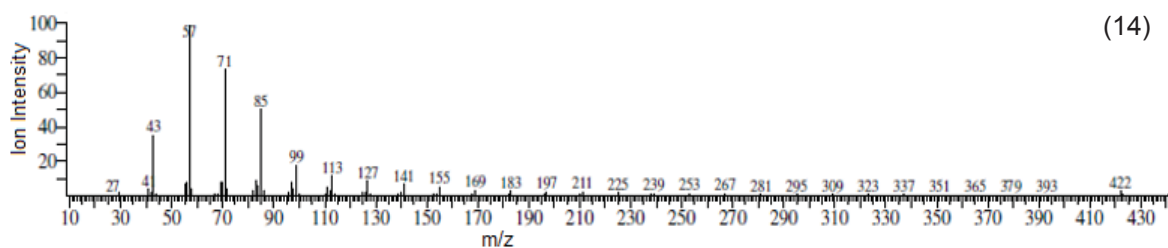
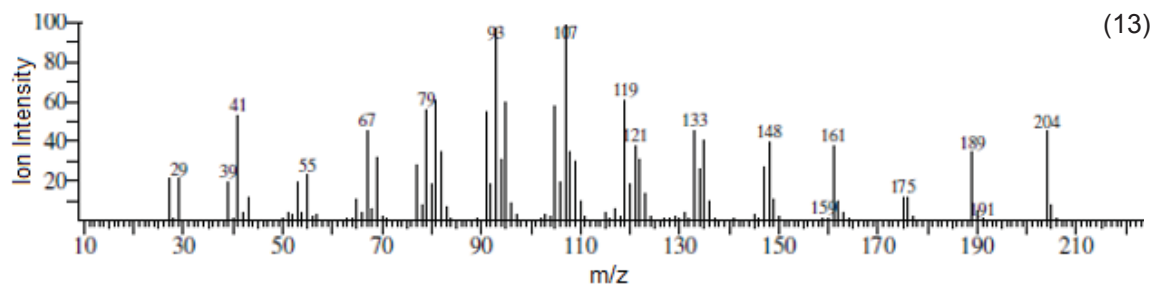
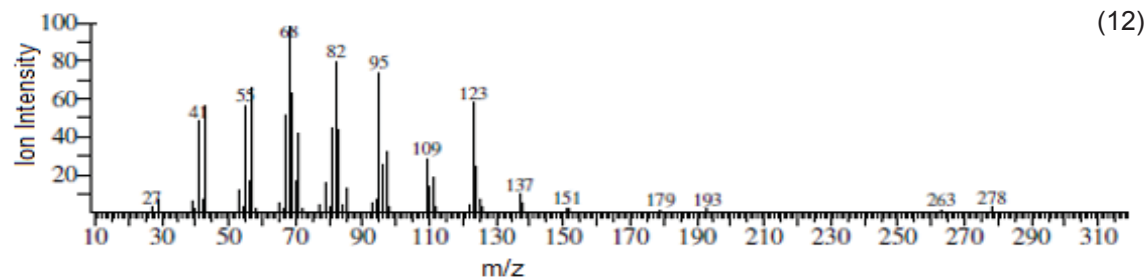
FIGURA 31:ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS NOMEADAS COMO **6**, **7**, **8**, **9**, **10** E **11**, IDENTIFICADAS NA MISTURA **H-3** DA FRAÇÃO (FrH-CF)



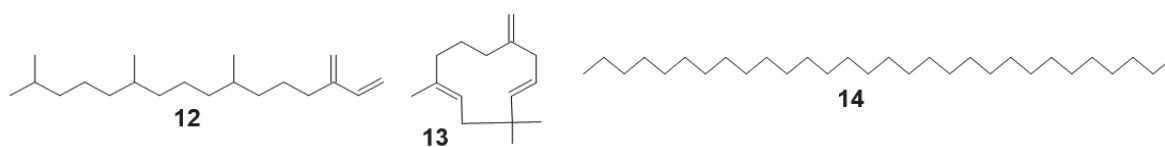
Sendo: 6: Naftalene, 1,1,4 trimetil -6 metilene - 5(3 metilene-4pentenil); 7: Fenentrene, 7 etenil – 1,1,4, trimetil; 8: Farnesene; 9: 1 Metil – 4 metilene -2 (2 metil – 1 propenil) 1 vinilcicloheptano; 10: Fenol 3,5 di tercbutil; 11: Tetracontane

FONTE: a autora, 2018.

A mistura **H-4** apresentou-se na forma de cristais brancos (132 mg), da qual pode ser suposta a identificação dos compostos: **12** (Neoftadiene – $C_{20}H_{38}$), **13** (β -Humulene – $C_{15}H_{24}$), **14** (Triacontane – $C_{30}H_{62}$). Os espectros de massas das substâncias presentes na mistura **H-4** são demonstrados na (FIGURA 32), enquanto as estruturas químicas estão demonstradas na (FIGURA 33).

FIGURA 32: ESPECTROS DE MASSAS DOS COMPOSTOS **12**, **13** E **14**

Sendo: 12: Neofadiene; 13: β- Humulene; 14: Triacontane
 FONTE: a autora, 2018.

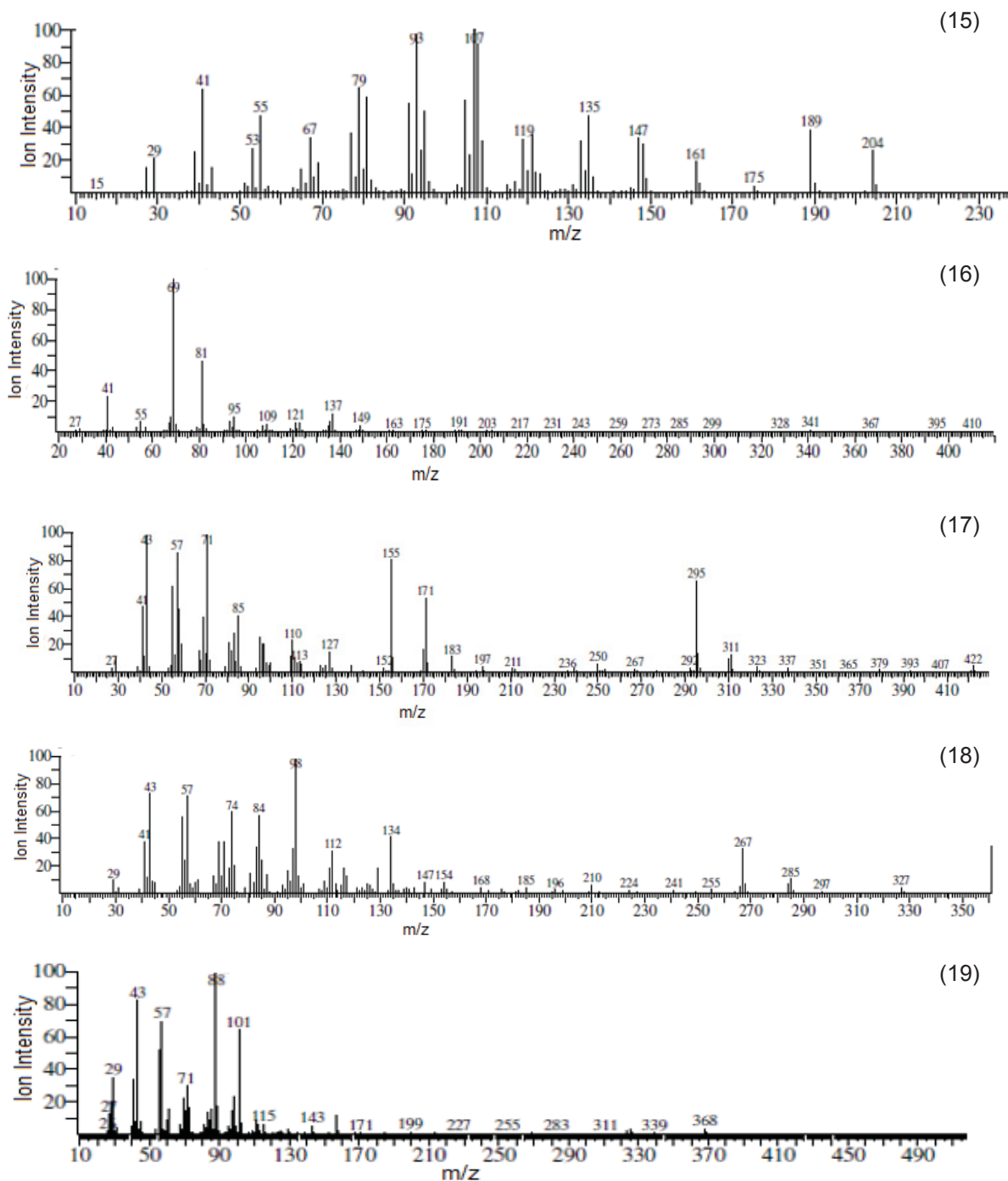
FIGURA 33: ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS NOMEADAS COMO **12**, **13** E **14** IDENTIFICADAS NA MISTURA **H-4** DA FRAÇÃO (FrH-CF)

Sendo: 12: Neofadiene; 13: β- Humulene; 14: Triacontane
 FONTE: a autora, 2018.

Em relação a mistura **H-5** (aspecto esbranquiçado, 39 mg), podemos supor a identificação de 7 compostos: **15** (3,8-dimethyl-4-(prop-1-en-2-yl)-1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydroazulene – $C_{15}H_{24}$), **16** (Supraene – $C_{30}H_{50}$), **17** (Nonacosan-10-one – $C_{29}H_{58}O$), **18** (α – Monostearin – $C_{21}H_{42}O_4$), **19** (ácido docosanóico -etil éster – $C_{24}H_{48}O_2$), **20** (Normuscone – $C_{15}H_{28}O$), **21** (Ciclotridecanone – $C_{13}H_{24}O$). Os espectros de massas das substâncias presentes na mistura **H-5** são demonstrados

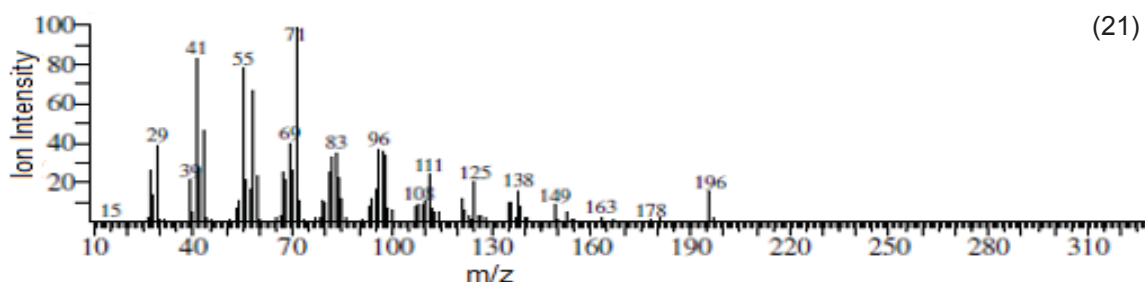
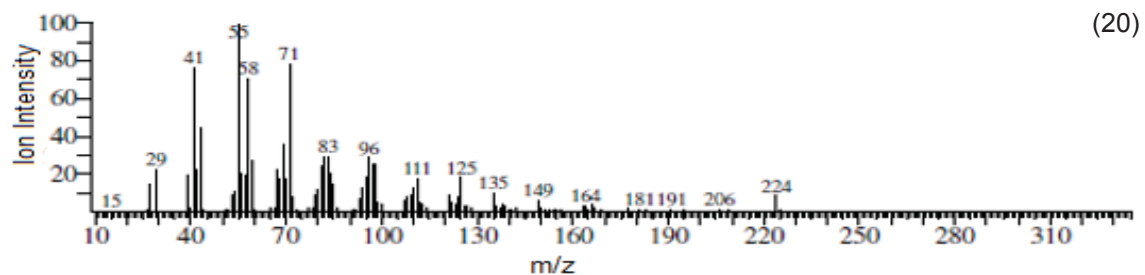
nas (FIGURAS 34, 35), enquanto as estruturas químicas estão demonstradas na (FIGURA 36).

FIGURA 34: ESPECTROS DE MASSAS DOS COMPOSTOS **15**, **16**, **17** E **18**.

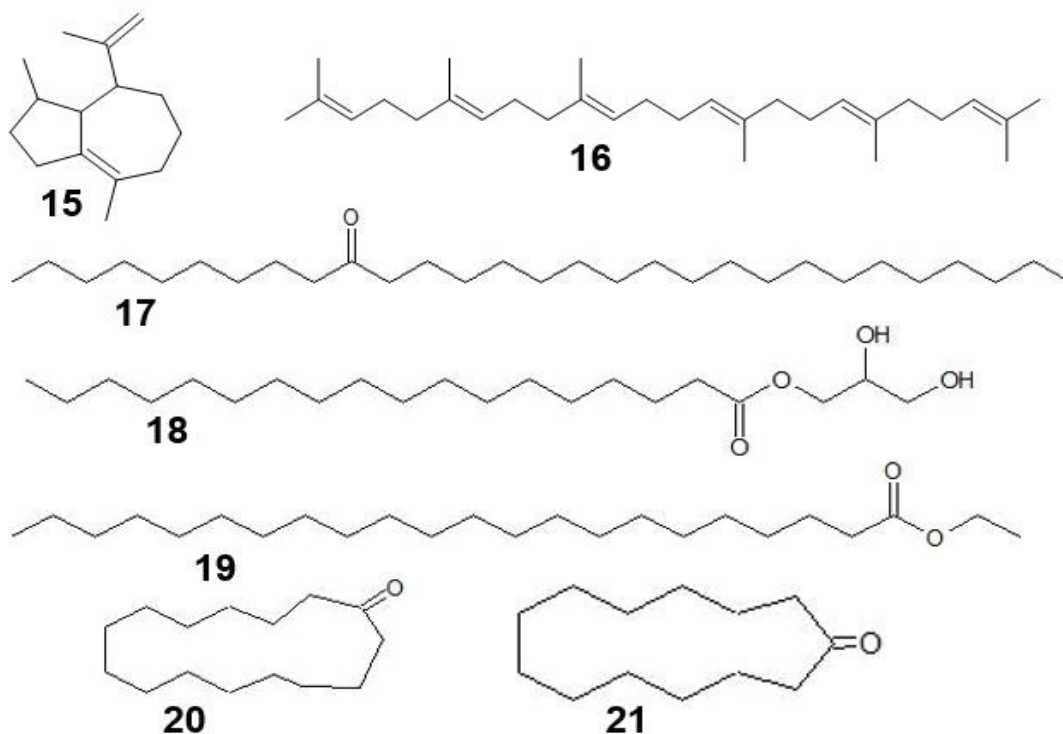


Sendo: 15: 3,8-Dimethyl-4-(prop-1-en-2-yl)-1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydroazulene; 16: Supraene; 17: Nonacosan-10-one; 18: α - Monostearin; 19: Ácido docosanóico -etil éster.

FONTE: a autora, 2018.

FIGURA 35: ESPECTROS DE MASSAS DOS COMPOSTOS **19**, **20** E **21**

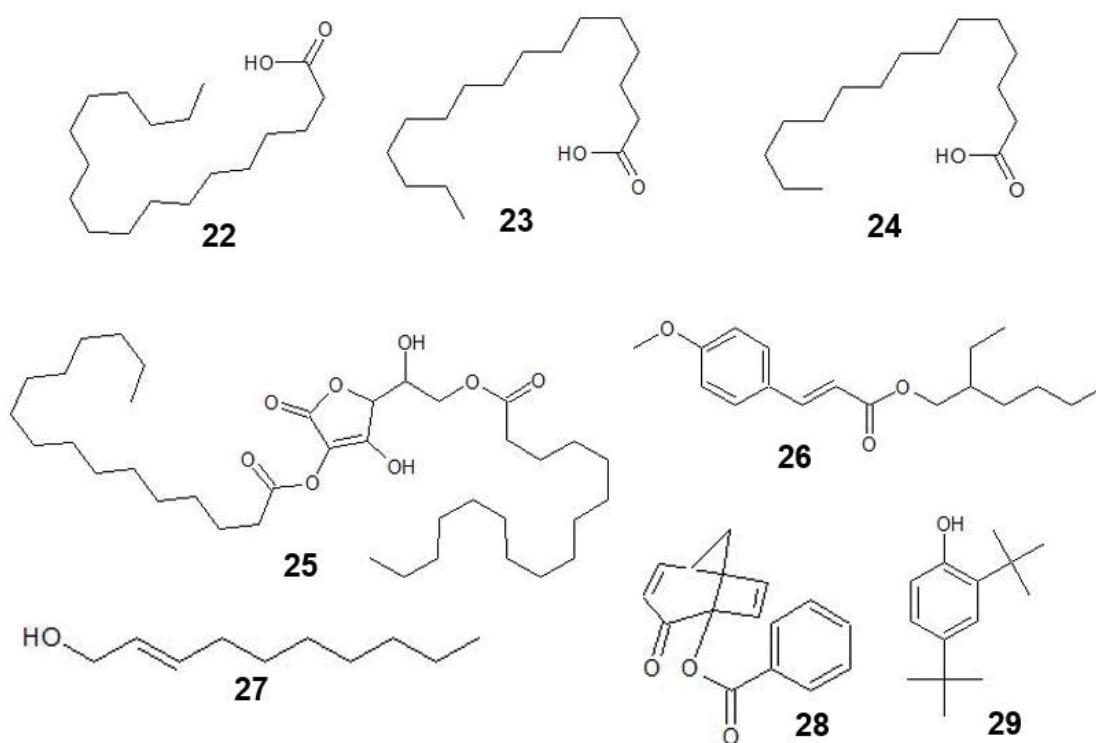
Sendo: 20: Normuscone; 21: Ciclotridecanone
 FONTE: a autora, 2018.

FIGURA 36: ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS NOMEADAS COMO **15**, **16**, **17**, **18**, **19**, **20** E **21**, IDENTIFICADAS NA MISTURA **H-5** DA FRAÇÃO (FrH-CF)

Sendo: 15: 3,8-Dimethyl-4-(prop-1-en-2-yl)-1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydroazulene; 16: Supraene; 17: Nonacosan-10-one; 18: α - Monostearin; 19: Ácido docosanóico -etil éster; 20: Normuscone; 21: Ciclotridecanone
 FONTE: a autora, 2018.

A mistura **H-6** apresentou-se na forma de cristais brancos (9,2 mg), da qual pode ser suposta a identificação dos compostos: **22** (Ácido Esteárico – $C_{18}H_{36}O_2$), **23** (Ácido Palmítico – $C_{16}H_{32}O_2$), **24** (Ácido Pentadecanóico – $C_{15}H_{30}O_2$), **25** (Ácido Ascórbico 2,6 dihexadecanoato – $C_{38}H_{68}O_8$), **26** (Octinoxate – $C_{18}H_{26}O_3$), **27** (Trans 2 decenol – $C_{10}H_{20}O$), **28** (2 oxobiciclo (3,2,2 nona, 3,6 dien – 1 ilbenzoato – $C_{16}H_{14}O_3$), **29** (Fenol 2,4 di tercbutil – $C_{14}H_{22}O$), além desses o composto Supraene ($C_{30}H_{50}$), um triterpeno já identificado na mistura **H-5**, foi novamente identificado nessa mistura. Os espectros de massas das substâncias presentes na mistura **H-6** são demonstrados nas (FIGURAS 38, 39), enquanto as estruturas químicas estão demonstradas na (FIGURA 37).

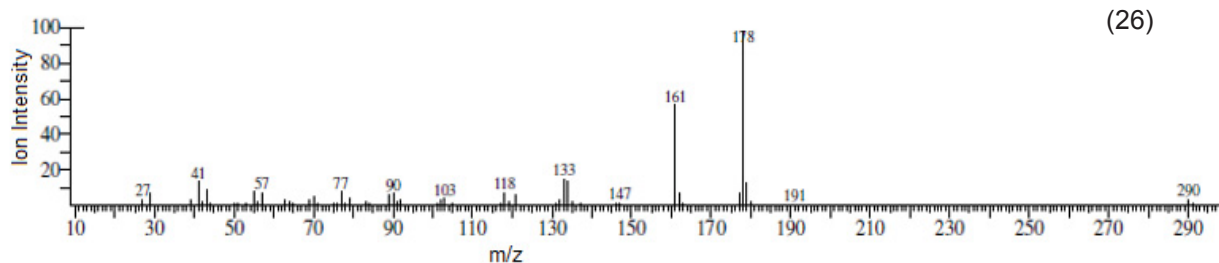
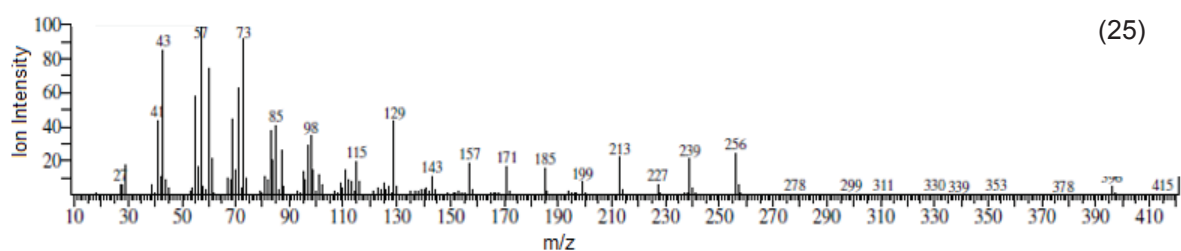
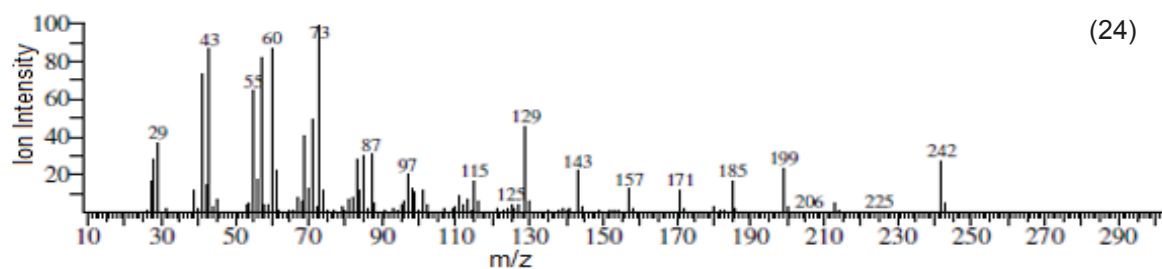
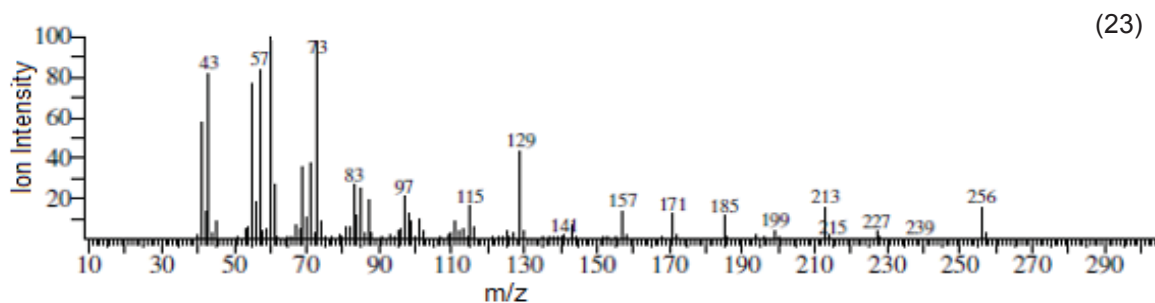
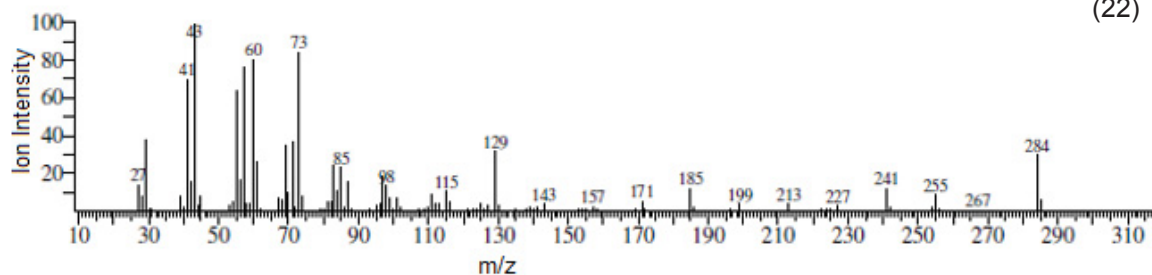
FIGURA 37: ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS NOMEADAS COMO **22**, **23**, **24**, **25**, **26**, **27**, **28** E **29**, IDENTIFICADAS NA MISTURA **H-6** DA FRAÇÃO (FrH-CF)



Sendo: 22: Ácido Esteárico; 23: Ácido Palmítico; 24: Ácido Pentadecanóico; 25: Ácido Ascórbico 2,6 dihexadecanoato; 26: Octinoxate; 27: Trans 2 decenol; 28: 2 oxobiciclo (3,2,2 nona, 3,6 dien – 1 ilbenzoato; 29: Fenol 2,4 di tercbutil.

FONTE: a autora, 2018.

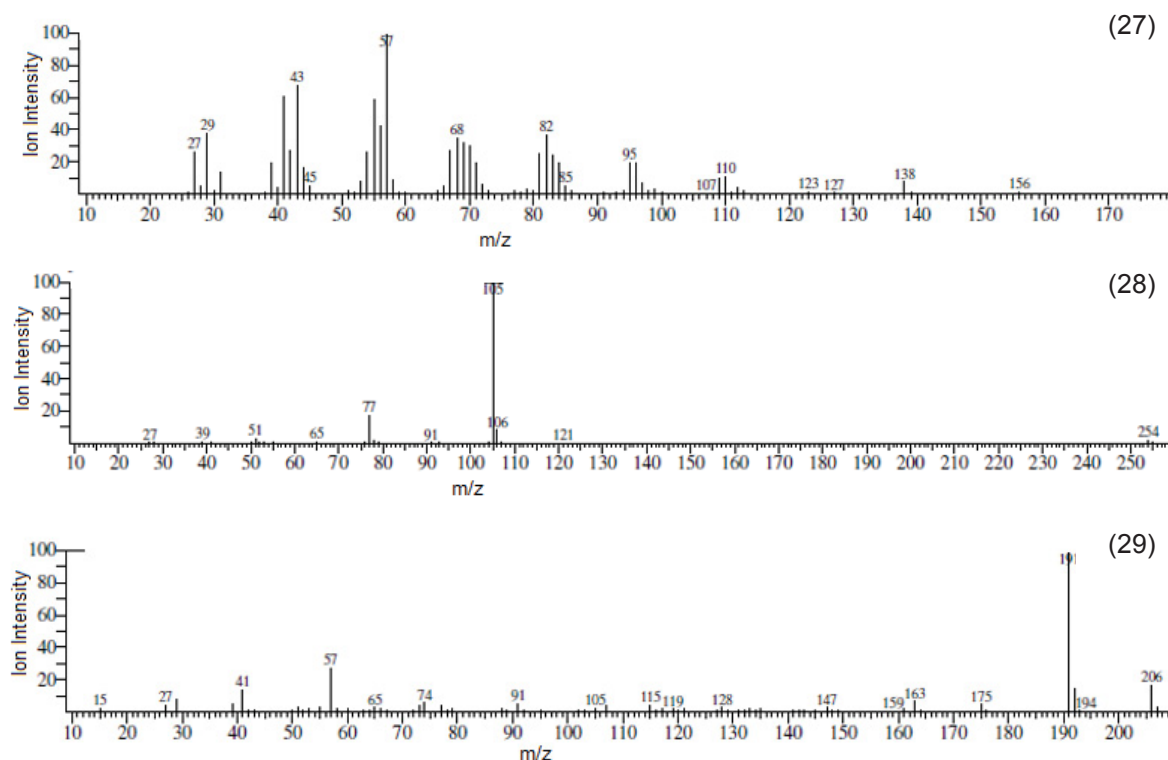
FIGURA 38: ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS NOMEADAS COMO **22**, **23**, **24**, **25** E **26**, IDENTIFICADAS NA MISTURA **H-6** DA FRAÇÃO (FrH-CF)



Sendo: 22: Ácido Esteárico; 23: Ácido Palmítico; 24: Ácido Pentadecanóico; 25: Ácido Ascórbico 2,6 dihexadecanoato; 26: Octinoxate.

FONTE: a autora, 2018.

FIGURA 39: ESTRUTURA QUÍMICA DAS SUBSTÂNCIAS NOMEADAS COMO **27**, **28** E **29**, IDENTIFICADAS NA MISTURA **H-6** DA FRAÇÃO (FrH-CF)



Sendo: 27: Trans 2 decenol; 28: 2 oxobiciclo (3,2,2 nona, 3,6 dien – 1 ilbenzoato; 29: Fenol 2,4 di tercbutil.

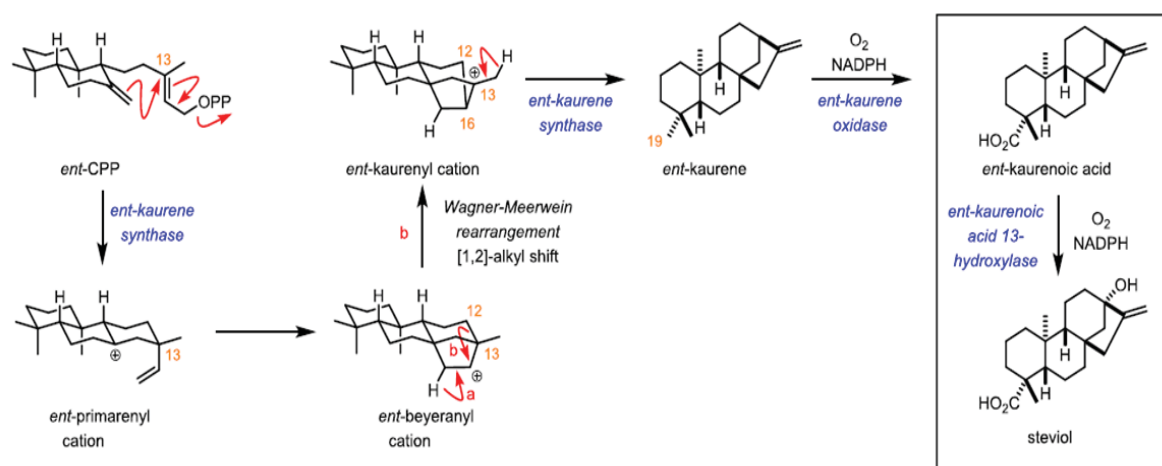
FONTE: a autora, 2018.

Neste trabalho, foram identificados 29 compostos, entre eles, 8 são diterpenos, 4 são sesquiterpenos, 1 monoterpene e 1 triterpene. Terpenos já haviam sido identificados anteriormente neste trabalho, por meio de CCD nos extratos e por meio de CG-MS nos óleos essenciais. Entre os terpenos identificados na fração (FrH-CF) do extrato (EEF), ressaltamos o Ent-kaur-16-ene, Farnesene e Rimuene, que também foram identificados como compostos majoritários do óleo essencial de *P. meridionale* e o monoterpene isolado p-mentane.

O diterpene Ent-kaur-16-ene, está sendo identificado pela primeira vez no gênero *Philodendron*, consiste em um metabólito secundário derivado biosinteticamente de Geranyl Geranyl Pirofosfato (GGPP) (FIGURA 40), através da ciclização inicial de GGPP e subsequentes modificações do esqueleto de carbono bicíclico, tais como oxidações, reduções, acetilações, metilações e glicosilações, sendo precursor do ácido ent-kaurenóico e de glicosídeos de steviol (TOYOMASU; SASSA, 2010; RIEHL et al., 2015).

A atividade sequencial da enzima ent-kaurene oxidase produz giberelinas que são diterpenoides tetracíclicos, reguladores essenciais em muitos aspectos do desenvolvimento de plantas, incluindo alongamento do caule, germinação de sementes e floração (FUKAZAWA et al., 2000). Já a atividade sequencial da enzima ent-kaurene sintase produz fitoalexinas diterpênicas que agem além da atividade antimicrobiana classicamente definida, como também incluem a atividade alelopática mediada por exsudação radicular e atividade antifeedante de insetos (SCHMELZ et al., 2014) o que ressalta tanto um mecanismo de defesa para a planta quanto um mecanismo de ação como bio-pesticidas. Na sequência desse trabalho são apresentadas as ações inseticidas e alelopáticas de óleo essencial e de extratos de *P. meridionale*, para as quais é possível que a ação de Ent-kaur-16-ene esteja relacionada.

FIGURA 40: FORMAÇÃO DE ENT-KAURENE A PARTIR DE GERANILGERANIL PIROFOSFATO



FONTE: Adaptado de RIEHL et al., 2015.

Considerando o monoterpeneo p-mentane, sua biossíntese inicia-se nos plastídeos e ocorre por ação da enzima geranyl difosfato sintase (GPPS) que condensa IPP e DMAPP para produzir o precursor C₁₀ (TURNER; CROTEAU, 2004). Os monoterpenos desempenham importantes papéis quimio-ecológicos nas interações de plantas com seus ambientes. Muitos monoterpenos oxigenados da família p-mentane são úteis nas indústrias de fragrâncias e pesticidas (LANFRANCHI et al., 2008).

Além da classe terpênica também foram encontrados 2 compostos fenólicos, 2 hidrocarbonetos de cadeia longa e 5 ácidos orgânicos, sendo dois deles

encontrados na forma estereificada (ácido docosanóico -etil éster e ácido ascórbico 2,6 dihexadecanoato). Pode-se assegurar que todas as propriedades e aplicações de uma substância são consequência de sua estrutura molecular (FELICIANO et al., 2016), desse feito, pode-se definir como extremamente importante a identificação de compostos em produtos naturais para posterior ensaios em suas ações farmacológicas.

4.5 TESTES QUÍMICOS E BIOLÓGICOS

4.5.1 Atividade Antioxidante

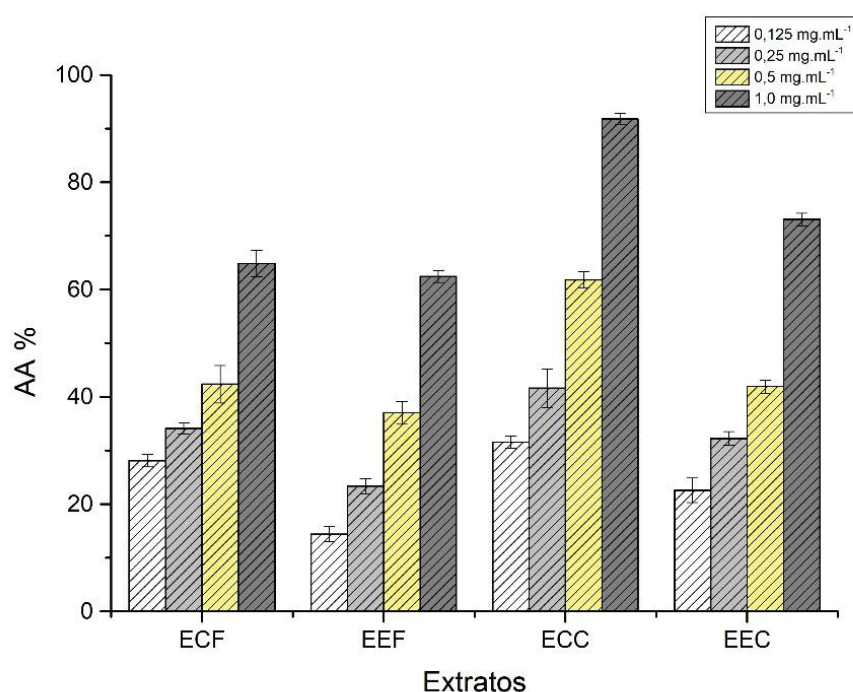
A atividade antioxidante de compostos vegetais pode ser atribuída a vários mecanismos como a prevenção da peroxidação lipídica e a capacidade sequestrante de radicais livres (KAUR; GEETHA, 2006), o que justifica a escolha dos testes “*in vitro*” realizados neste trabalho, onde se optou por técnicas que apresentassem mecanismos de ação diferentes.

A avaliação preliminar qualitativa dos extratos sob a ação do DPPH[•], sugeriu a existência de substâncias com atividade antioxidante, evidenciadas nas cromatoplacas pela presença de manchas amarelas sobre fundo púrpuro, resultantes da redução do DPPH[•]. Os resultados da avaliação quantitativa da atividade antioxidante (AA %) dos extratos brutos (ECF, EEF, ECC e EEC) de *P. meridionale* e dos controles positivos, estão apresentados no (GRÁFICO 4), mostrando que todas as espécies têm atividade sequestradora de DPPH[•], contudo os extratos obtidos do caule (ECC e EEC) apresentaram melhor atividade antioxidante frente aos extratos obtidos das folhas (ECF, EEC) de *P. meridionale*. Também foi observado que a atividade antioxidante é crescente com a concentração dos extratos, sendo que as soluções com concentração de 1 mg.mL⁻¹ obtiveram mais de 50% de ação antioxidante para todos os extratos.

Embora a atividade antioxidante esteja presente em todos os extratos avaliados, quando comparados aos padrões (ácido ascórbico e rutina), percebe-se que para reduzir 50% da concentração inicial de DPPH[•] (IC₅₀), é preciso uma maior concentração de extratos. Os valores obtidos para IC₅₀ em mg.mL⁻¹, foram equivalentes a 0,64 ± 0,82 para ECF, 0,75 ± 0,34 para EEF, 0,37 ± 0,78 para ECC e 0,6 ± 0,99 para EEC, sendo diferenças significativas ao serem comparados aos

controles positivos rotina ($IC_{50} = 0,027 \pm 1,22 \text{ mg.mL}^{-1}$) e ácido ascórbico ($IC_{50} = 0,006 \pm 0,71 \text{ mg.mL}^{-1}$). Ao analisar os resultados obtidos frente à atividade antioxidante na capacidade de sequestro do radical livre DPPH^{*}, percebeu-se que os extratos brutos com melhor atividade antioxidante (ECC e EEC) foram também aqueles que apresentaram maior concentração de flavonoides (TABELA 12), o que sugere que esses metabólitos secundários possam estar interferindo nesses resultados, uma vez que apresentam atividade antioxidante comprovada (FERREIRA; ABREU, 2007; DO et al., 2014, CALIXTO JÚNIOR et al., 2015; DHANANI et al., 2017).

GRÁFICO 4: PORCENTAGEM DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (AA%) DOS EXTRATOS BRUTOS (ECF, EEF, ECC E EEC) DE *Philodendron meridionale* FRENTE AO DPPH^{*}



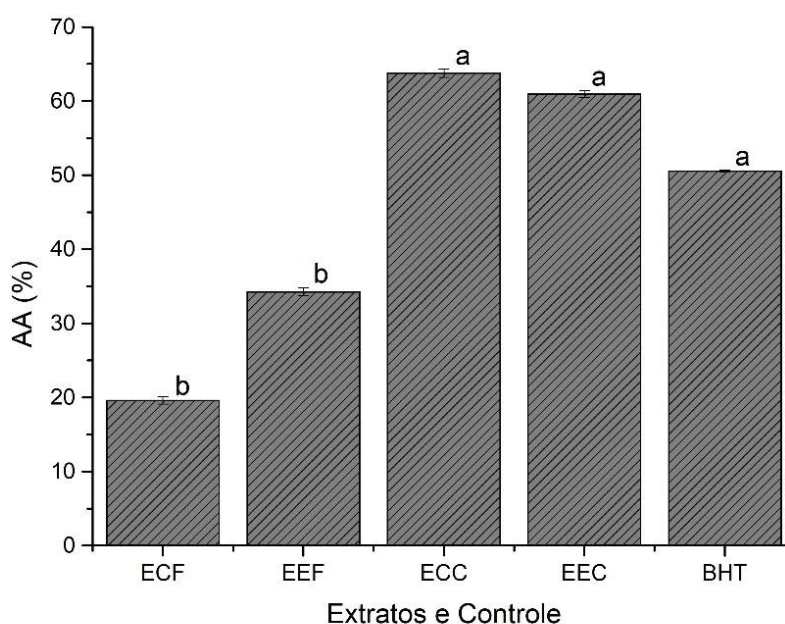
Sendo: ECF: Extrato Cetônico da Folha; EEF: Extrato Etanólico da Folha; ECC: Extrato Cetônico do Caule; EEC: Extrato Etanólico do Caule. Os valores não são significativamente diferentes numa mesma concentração em 0,05 (ANOVA e Teste de Tukey). Tempo de reação com o DPPH^{*}: 30 min.
 FONTE: a autora, 2015.

A peroxidação lipídica foi analisada pelo método de quantificação do TBARS, que é um ensaio utilizado extensivamente para estimar a peroxidação dos lipídios nas membranas e sistemas biológicos. A peroxidação lipídica começa normalmente com a extração de um átomo de hidrogênio de uma cadeia poliinsaturada de um lípido, formando-se um radical lipídico. Se este radical não for neutralizado pelas defesas antioxidantes, vai rapidamente desencadear um fenômeno de propagação

da peroxidação lipídica reagindo com outros lípidos adjacentes e formando lípidos hidroperóxidos (LOOH^\bullet) (FERREIRA; ABREU, 2007).

Neste trabalho comprovou-se que os extratos brutos (ECF, EEF, ECC e EEC) de *P. meridionale* diminuíram os níveis de peroxidação lipídica “*in vitro*”, promovendo a redução da produção das substâncias reativas com o TBARS em 19,58% com ECF, 34,24% com EEF, 63,76% com ECC e 60,92% com EEC, sendo que esses últimos tiveram um resultado mais acentuado que o controle positivo (BHT) que promoveu uma redução equivalente a 50,55% (GRÁFICO 5). A análise estatística dos dados demonstra que não existe diferença entre os extratos (ECC e EEC) e o controle BHT que é um antioxidante de reconhecida atividade, utilizado principalmente na indústria de alimentos.

GRÁFICO 5: PORCENTAGEM DE REDUÇÃO DA OXIDAÇÃO (AA%) DOS EXTRATOS BRUTOS (ECF, EEF, ECC E EEC) DE *Philodendron meridionale* E O PADRÃO BHT, FRENTE AO TBARS



Sendo: ECF: Extrato Cetônico da Folha; EEF: Extrato Etanólico da Folha; ECC: Extrato Cetônico do Caule; EEC: Extrato Etanólico do Caule; B: Controle positivo: BHT. Os valores representados por letras diferentes são significativamente diferentes em 0,05 (ANOVA e Teste de Tukey).

FONTE: a autora, 2015.

Segundo Patel et al. (2001) a proteção da lipoperoxidação auxilia na prevenção e combate aos danos celulares, como por exemplo, o aumento da permeabilidade celular com a entrada de cálcio, saída de citocromo C das

mitocôndrias e ativação da esfingomielienase, todos os processos que ativam as cascatas de caspases, proteínas sinalizadoras de morte celular.

O método de complexação pelo fosfomolibdênio foi usado para avaliar a capacidade antioxidante total de uma mistura complexa de compostos, tanto de componentes lipofílicos quanto de hidrofílicos. Os resultados da avaliação da capacidade antioxidante total dos extratos brutos (ECF, EEF, ECC e EEC) de *P. meridionale* obtidos pelo ensaio da redução do complexo fosfomolibdênio, quando comparados a ação dos padrões ácido ascórbico e ácido gálico, estão dispostos na (TABELA 14). Percebeu-se que a atividade antioxidante foi maior, quando comparado os extratos em relação ao padrão ácido gálico, do que em relação ao padrão ácido ascórbico, e que os extratos do caule tiveram maior atividade antioxidante em comparação aos extratos da folha.

TABELA 14: RESULTADOS DO ENSAIO DO EXTRATO BRUTO DE *Philodendron meridionale* PELA REDUÇÃO DO COMPLEXO FOSFOMOLIBDÊNIO

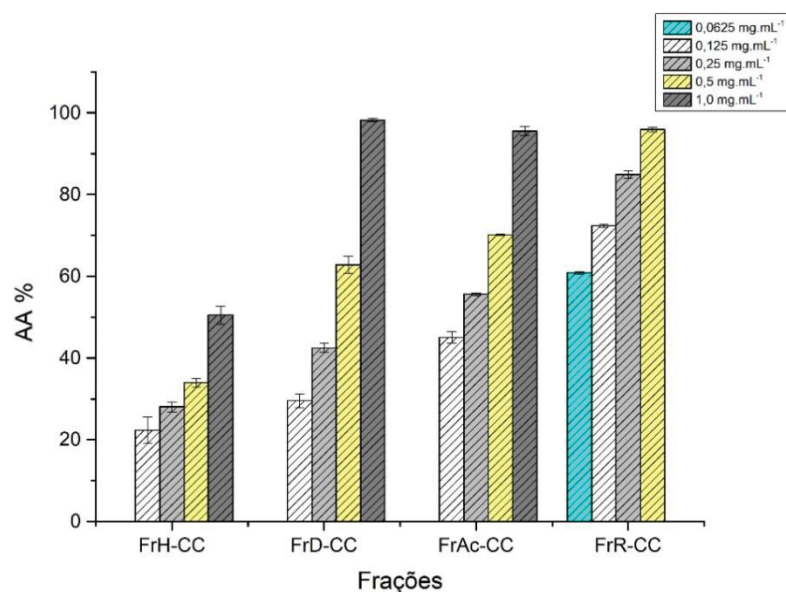
AMOSTRA	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM RELAÇÃO AO ÁCIDO ASCÓRBICO - AA (%) \pm DP	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM RELAÇÃO AO ÁCIDO GÁLICO - AA (%) \pm DP
ÁCIDO ASCÓRBICO	100	-----
ÁCIDO GÁLICO	-----	100
ECF	7,3 \pm 0.012*	16 \pm 0.014*
EEF	14 \pm 0.035*	32 \pm 0.01*
ECC	25 \pm 0.028*	41 \pm 0.043*
EEC	18 \pm 0.031*	37 \pm 0.074*

Sendo: ECF: Extrato Cetônico da Folha; EEF: Extrato Etanólico da Folha; ECC: Extrato Cetônico do Caule; EEC: Extrato Etanólico do Caule. Os valores (*) são significativamente diferentes em 0,05 (ANOVA e Teste de Tukey).

FONTE: a autora, 2015.

Uma vez que os extratos do caule (ECC e EEC) foram os que apresentaram maior atividade antioxidante frente ao DPPH^{*}, TBARS e complexação do fosfomolibdênio, decidiu-se testar as frações (FrH-CC, FrD-CC, FrAc-CC, FrR-CC, FrH-EC, FrD-EC, FrAc-EC, FrR-EC) obtidas a partir desses extratos. Os resultados obtidos com as frações do extrato (ECC) e do extrato (EEC), estão apresentados nos (GRÁFICOS 6, 7), respectivamente.

GRÁFICO 6: PORCENTAGEM DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (AA%) DAS FRAÇÕES (FRH-CC, FRD-CC, FRAC-CC, FRR-CC) OBTIDAS DO EXTRATO (ECC) DE *Philodendron meridionale*, FRENTE AO DPPH*

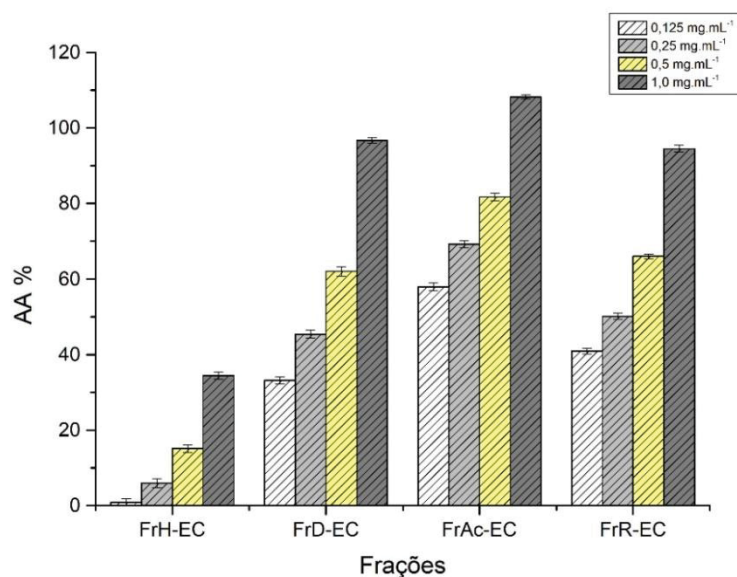


Sendo: ECC: Extrato Cetônico do Caule; FrH-CC: Fração Hexânica do Extrato Cetônico do Caule; FrD-CC: Fração DCM do Extrato Cetônico do Caule; FrAc-CC: Fração AcEt do Extrato Cetônico do Caule; FrR-CC: Fração Residual do Extrato Cetônico do Caule

Tempo de reação com o DPPH*: 30 min.

FONTE: a autora, 2015.

GRÁFICO 7: PORCENTAGEM DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (AA%) DAS FRAÇÕES (FRH-EC, FRD-EC, FRAC-EC, FRR-EC) OBTIDAS DO EXTRATO (EEC) DE *Philodendron meridionale*, FRENTE AO DPPH*



Sendo: EEC: Extrato Cetônico do Caule; FrH-EC: Fração Hexânica do Extrato Etanólico do Caule; FrD-EC: Fração DCM do Extrato Etanólico do Caule; FrAc-EC: Fração AcEt do Extrato Etanólico do Caule; FrR-EC: Fração Residual do Extrato Etanólico do Caule.

Tempo de reação com o DPPH*: 30 min.

FONTE: a autora, 2015.

As frações FrH-CC e FrH-EC, particionadas com hexano, e que por sua vez contém substâncias menos polares, foram as que apresentaram menor atividade antioxidante frente ao DPPH^{*}. O fracionamento dos extratos resultou em melhor atividade antioxidante para as demais frações, obtendo-se com a concentração de 1mg.mL⁻¹, após 30 min de reação, quase 100% de atividade para as frações FrD-CC, FrAc-CC, FrAc-EC, FrR-EC, e na concentração de 0,5 mg.mL⁻¹, mais de 60% de atividade para todas as frações polares. A fração FrR-CC foi a que apresentou melhor atividade antioxidante em todas as concentrações testadas. Por esse motivo, foi testada também na concentração de 0,0625 mg.mL⁻¹ onde apresentou 60% de atividade antioxidante. Com a linearidade obtida nas diversas concentrações foi possível a determinação de IC₅₀ para todas as frações, sendo que o resultado obtido para a fração FrR-CC (0,0058 ± 1,23 mg.mL⁻¹) foi equivalente ao padrão ácido ascórbico (0,006 ± 0,71 mg.mL⁻¹) e apresentou melhor atividade que o padrão rutina (0.027±0,09 mg.mL⁻¹) (TABELA 15).

TABELA 15: VALORES DE IC₅₀ PARA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE FRENTE AO DPPH^{*}, PARA OS PADRÕES RUTINA E ACIDO ASCÓRBICO (AA), E PARA AS FRAÇÕES (FRH-CC, FRD-CC, FRAC-CC, FRR-CC, FRH-EC, FRD-EC, FRAC-EC, FRR-EC) OBTIDAS DO CAULE DE *Philodendron meridionale*.

ECC		EEC	
AMOSTRA	IC ₅₀ (mg.mL ⁻¹)	AMOSTRA	IC ₅₀ (mg.mL ⁻¹)
FrH-CC	1,02 ±0,06*	FrH-EC	1,24±0,12*
FrD-CC	0.36 ±0,03	FrD-EC	0.33±0,07
FrAc-CC	0.174±0,05	FrAc-EC	0.057±0,05
FrR-CC	0.005±0,09	FrR-EC	0.25±0,11
Padrão AA	0.006±0,05	Padrão Rutina	0.027±0,09

Sendo: FrH-CC: Fração Hexano do Extrato Cetônico do Caule; FrD-CC: Fração DCM do Extrato Cetônico do Caule; FrAc-CC: Fração AcEt do Extrato Cetônico do Caule; FrR-CC: Fração Residual do Extrato Cetônico do Caule; FrH-EC: Fração Hexano do Extrato Etanólico do Caule; FrD-EC: Fração DCM do Extrato Etanólico do Caule; FrAc-EC: Fração AcEt do Extrato Etanólico do Caule; FrR-EC: Fração Residual do Extrato Etanólico do Caule. Tempo de reação com o DPPH^{*}: 30 min. Os valores (*) são significativamente diferentes em 0,05 (ANOVA e Teste de Tukey) quando comparados aos padrões.

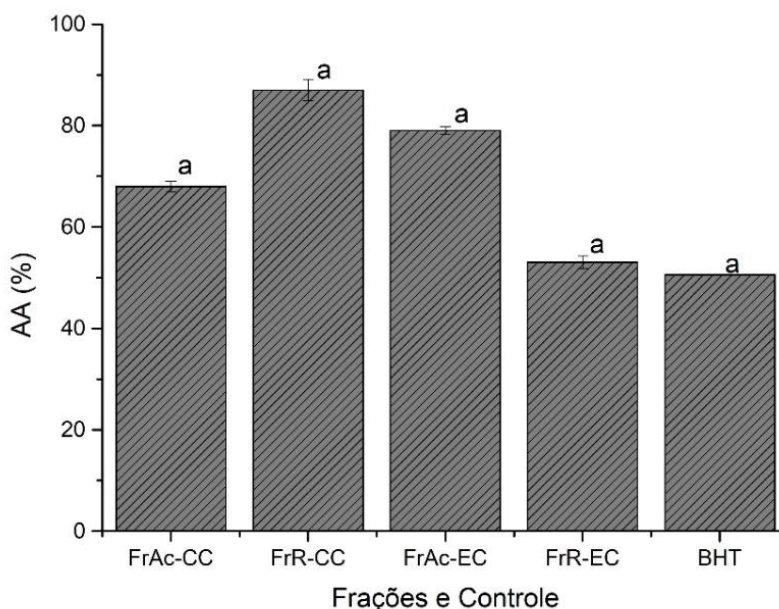
FONTE: a autora, 2015.

Segundo Paula et al. (2014) o ensaio de atividade sequestradora de DPPH^{*}, pode ser empregado para *screening* de produtos naturais, tornando-se importante como teste preliminar para a determinação do potencial antioxidante de um extrato, fração ou substância pura. Sendo assim, os ensaios de peroxidação lipídica pelo método de quantificação do TBARS e da redução do complexo fosfomolibdênio

foram realizados com as frações que apresentaram melhor resultado frente ao DPPH[•] (FrAc-CC, FrR-CC, FrAc-EC, FrR-EC).

Quanto ao ensaio de peroxidação lipídica, a atividade antioxidante das frações testadas foi comprovadamente melhor em comparação aos extratos, sendo que todas as frações testadas apresentaram atividade antioxidante maior em comparação ao controle positivo BHT (GRÁFICO 8).

GRÁFICO 8: PORCENTAGEM DE REDUÇÃO DA OXIDAÇÃO (AA%) DOS EXTRATOS DO CAULE (FRAC-CC, FRR-CC, FRAC-EC, FRR-EC) DE *Philodendron meridionale* E O PADRÃO BHT



Sendo: FrAc-CC: Fração AcEt do Extrato Cetônico do Caule; FrR-CC: Fração Residual do Extrato Cetônico do Caule; FrAc-EC: Fração AcEt do Extrato Etanólico do Caule; FrR-EC: Fração Residual do Extrato Etanólico do Caule. Os valores não são significativamente diferentes numa mesma concentração em 0,05 (ANOVA e Teste de Tukey). Tempo de reação com o DPPH[•]: 30 min

FONTE: a autora, 2015.

As frações também apresentaram alta atividade antioxidante pela redução do complexo de fosfomolibdênio, principalmente quando comparadas ao ácido gálico, sendo que a fração (FrR-CC) apresentou atividade antioxidante 1,5 vezes maior que o ácido gálico para este método (TABELA 16). Já ao serem comparadas ao padrão ácido ascórbico a fração (FrR-CC) apresentou atividade correspondente a 64% do padrão mencionado.

TABELA 16: RESULTADOS DO ENSAIO DE FRAÇÕES DO EXTRATO BRUTO DO CAULE DE *Philodendron meridionale* PELA REDUÇÃO DO COMPLEXO FOSFOMOLIBDÊNIO

AMOSTRA	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM RELAÇÃO AO ÁCIDO ASCÓRBICO - AA (%)	ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM RELAÇÃO AO ÁCIDO GÁLICO - AA (%)
ÁCIDO ASCÓRBICO	100	-----
ÁCIDO GÁLICO	-----	100
FrAc-CC	18	60
FrR-CC	64	150
FrAc-EC	39	88
FrR-EC	12	41

Sendo: FrAc-CC: Fração AcEt do Extrato Cetônico do Caule; FrR-CC: Fração Residual do Extrato Cetônico do Caule; FrAc-EC: Fração AcEt do Extrato Etanólico do Caule; FrR-EC: Fração Residual do Extrato Etanólico do Caule. Os valores não são significativamente diferentes numa mesma concentração em 0,05 (ANOVA e Teste de Tukey).

FONTE: a autora, 2015.

As frações FrR-CC e FrAc-EC foram as que apresentaram melhor atividade antioxidante pelos três métodos utilizados. Pode-se afirmar que para estas frações a atividade antioxidante foi melhor ou igual aos padrões utilizados. Essa ação pode ser devida aos compostos fenólicos, os quais foram quantificados nas frações polares dos extratos de *P. meridionale*, neste trabalho (TABELA 12).

Os antioxidantes fenólicos interagem, preferencialmente, com o radical peroxil por ser este mais prevalente na etapa da autooxidação e por possuir menor energia do que outros radicais, fato que favorece a abstração do seu hidrogênio (DECKER, 1998), sendo um mecanismo importante na redução da oxidação lipídica em tecidos, vegetal e animal (ANGELO; JORGE, 2007). A atividade proporcionada por estes metabólitos secundários ocorre pela capacidade que estes compostos apresentam de neutralizar ou eliminar os radicais livres, além do fato de apresentarem propriedade redox e presença de estrutura com anéis conjugados e grupos carboxílicos, capazes de inibir a peroxidação lipídica (GARG et al., 2012).

Os fitoquímicos fenólicos podem inibir o dano oxidativo ao ácido desoxirribonuclêico (DNA) celular e, assim, prevenir a mutagênese e a tumorigênese (KELLY et al., 2001). A atividade antioxidante dos flavonoides depende da sua estrutura e pode ser determinada por cinco fatores: reatividade como agente doador de hidrogênio e elétrons, estabilidade do radical flavanoil formado, reatividade frente a outros antioxidantes, capacidade de quelar metais de transição e solubilidade e interação com as membranas (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006).

Podemos afirmar, de acordo com as metodologias utilizadas, ou seja, sequestrando radicais livres, reduzindo a peroxidação lipídica ou reduzindo o

molibdênio em maior ou menor proporção, que extratos e frações de *P. meridionale*, apresentaram atividade antioxidante. Até o momento, nenhum estudo compreendendo atividade antioxidante havia sido realizado para plantas do gênero *Philodendron*, sendo esse o primeiro trabalho a fazê-lo. Acredita-se que as frações dos extratos de *P. meridionale* possam constituir fonte promissora de compostos antioxidantes. Estudos fitoquímicos de isolamento e identificação destes compostos são necessários para que se atribua a um determinado composto esta atividade ou a ação sinérgica de compostos existentes nos extratos e frações.

4.5.2 Atividade Hemolítica

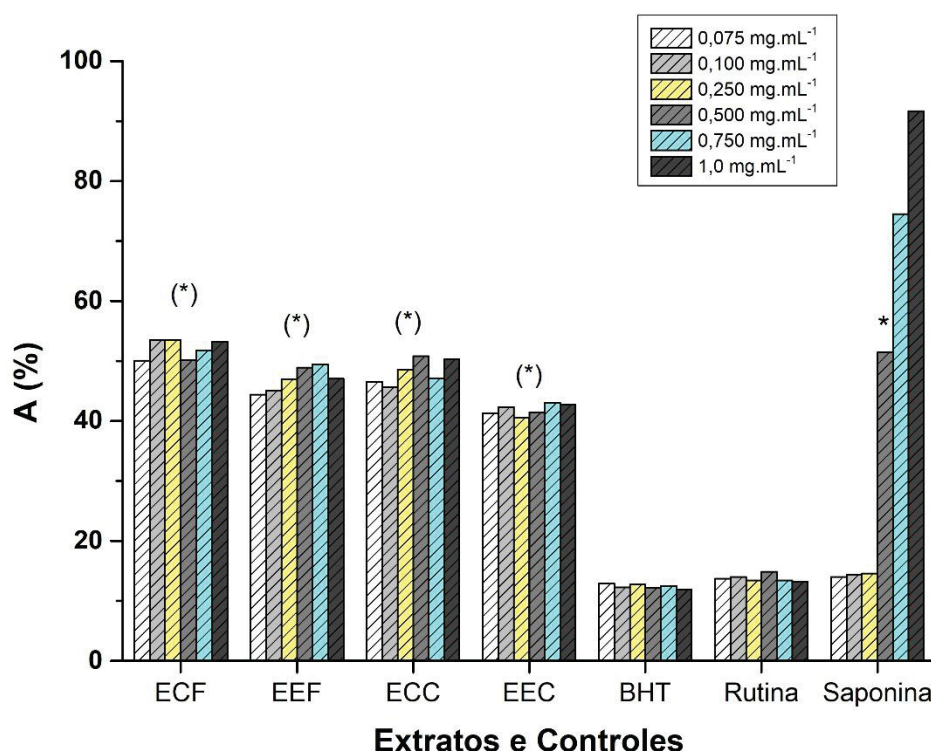
Os extratos brutos (ECF, EEF, ECC e EEC) de *P. meridionale* apresentaram atividade hemolítica, variando entre 45% a 53% (GRÁFICO 9), para todas as concentrações testadas e não caracterizando dose-dependente. Os controles negativos rotina e BHT apresentaram, respectivamente, em torno de 12% e 14% de hemólise, esses valores foram também independentes das concentrações testadas, enquanto as soluções de saponinas apresentaram efeito hemolítico de 14% até a concentração de 0,25 mg.mL⁻¹, e um efeito dose-dependente progressivo em concentrações maiores. O controle positivo, Triton, apresentou 100% de atividade hemolítica na concentração testada.

Dentre os mecanismos responsáveis pelo efeito hemolítico, os surfactantes causam hemólise através da dissolução da membrana plasmática dos eritrócitos, que se rompe devido ao aumento da fragilidade ou devido à lise osmótica causada pelo aumento da permeabilidade da membrana plasmática (APARICIO et al., 2005). Desse modo, as saponinas, utilizadas no presente estudo como controle positivo para avaliação da atividade hemolítica, produzem alterações na membrana eritrocitária, causando ruptura e liberação de pigmentos de hemoglobina característicos (OLIVEIRA et al., 2009). Os fenóis, são capazes de promover a hemólise através da oxidação da hemoglobina, formando meta-hemoglobina, e está associada à produção de ânion superóxido, peróxido de hidrogênio ou radicais hidroxila, o que vai iniciar um dano enzimático (BUKOWSKA; KOWALSKA, 2004).

Neste trabalho, também foi detectada a presença de saponinas e de alta concentração de compostos fenólicos nos extratos brutos. É possível que o efeito hemolítico obtido, tenha sido provocado por esses metabólitos, no entanto devem

ser realizados novos estudos em busca de substâncias e de mecanismos específicos para a atividade hemolítica de *P. meridionale*.

GRÁFICO 9: PORCENTAGEM DE ATIVIDADE HEMOLÍTICA (AH%) DOS EXTRATOS BRUTOS (ECF, EEF, ECC E EEC) DE *Philodendron meridionale*



Sendo: ECF: Extrato Cetônico da Folha; EEF: Extrato Etanólico da Folha; ECC: Extrato Cetônico do Caule; EEC: Extrato Etanólico do Caule. Os valores (*) são significativamente diferentes em 0,05 (ANOVA e Teste de Tukey).

FONTE: a autora, 2017.

Em relação ao gênero *Philodendron*, o único estudo que aborda a ação hemolítica até o presente momento é o de Moura et al. (2013), que analisaram a eficácia do extrato de *P. megalophyllum* em inibir a atividade hemolítica da enzima fosfolipase A₂ provocada pelo veneno de *Bothrops atrox* (Linnaeus) obtendo um efeito fraco (19% de inibição) na concentração 1:30 (maior concentração testada), assim como uma fraca inibição na coagulação sanguínea provocada pelo mesmo veneno.

4.5.3 Atividade Antimicrobiana

No ensaio com o extrato EEF, na concentração de 2000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ houve inibição do crescimento de cepas de *C. albicans*. No ensaio com o óleo essencial de folhas e de caules de *P. meridionale*, com a concentração de 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ houve inibição do crescimento de cepas de *S. aureus*. Para os demais micro-organismos e para os demais extratos e concentrações testados, não houve inibição de crescimento. O teste foi realizado em quintuplicatas e repetido para comprovação dos resultados.

Holetz et al. (2002) relatam em seus estudos que os extratos com uma concentração inibitória menor que 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ tem uma boa atividade antibacteriana, se a concentração inibitória for entre 100-500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ é moderada, de 500-1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ é fraca e acima de 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ considera-se inativo. Dessa forma, mesmo o EEF tendo apresentado inibição do crescimento de *C. albicans* na concentração de 2000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, pela concentração ser considerada alta, pode-se considerar não significativo clinicamente. A ação inibitória provocada pelo óleo essencial de folhas e caules de *P. meridionale*, sobre as cepas de *S. aureus* é considerada fraca, uma vez que será necessária uma concentração alta de óleo essencial para a obtenção do efeito desejado.

A realização do teste CBM veio a confirmar o resultado obtido ao se determinar a CIM. Os resultados considerados positivos para a atividade bactericida foram aqueles obtidos com o EEF na concentração de 2000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, frente ao micro-organismo *C. albicans* e com o óleo essencial de folhas e de caules de *P. meridionale*, na concentração de 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ frente à *S. aureus*.

Óleos essenciais, quando apresentam ação antimicrobiana, decorrem de três mecanismos: através da interferência na dupla camada fosfolipídica da parede celular da bactéria, pelo aumento da permeabilidade e perda dos constituintes celulares e ainda por alteração de uma variedade de sistemas enzimáticos, como os envolvidos na produção de energia celular e síntese de componentes estruturais, ou destruição do material genético (KALEMBA; KUNICKA, 2003).

Em busca recente na literatura, foi encontrado apenas um trabalho que relata ensaios com plantas do gênero *Philodendron* (TABELA 3) e atividade antimicrobiana, em que Silva et al. (2016) avaliaram a ação antibacteriana do óleo essencial da raiz

de *P. goeldii* por meio da técnica de bioautografia, com a inibição do crescimento de *Corynebacterium glutamicum*, portanto não há estudos com plantas do gênero *Philodendron* que possam ser comparados com os resultados de CIM e de CBM obtidos nos ensaios com *P. meridionale*.

Entre os ensaios realizados neste trabalho, o ensaio de microdiluição em caldo permite determinar a concentração mínima de um agente necessário para inibir o crescimento ou matar um microrganismo. A CIM é definida como a menor concentração de extrato que visivelmente inibe o crescimento bacteriano, sendo considerada uma excelente ferramenta para determinar a susceptibilidade dos organismos aos antimicrobianos e, portanto, usado para julgar o desempenho de todos os outros métodos de susceptibilidade (ANDREWS, 2001).

4.5.4 Avaliação sobre Células Tumoriais

4.5.4.1 Ensaio de viabilidade celular “*in vitro*” pelo método de redução do MTT

Dentre as linhagens celulares investigadas nesse trabalho, as células Jurkat constituem uma linhagem de linfócitos T derivados de leucemia de células T (ATLL) que em cultura se desenvolvem em suspensão (ALVES; GUIMARÃES, 2010) e que são utilizadas para determinar o mecanismo de susceptibilidade de cânceres à drogas e radiação (CHKHIKVISHVILI et al., 2013). Os extratos brutos (ECF, EEF, ECC e EEC) de *P. meridionale* não demonstraram um potencial citotóxico significativo (GRÁFICO 10), sendo viável o desenvolvimento celular.

A linhagem celular HRT constitui células epiteliais de adenocarcinoma de colón, que crescem aderidas à placa de ensaio, e que quando colocadas em presença dos extratos brutos (ECF, EEF, ECC e EEC) de *P. meridionale*, também não tiveram a sua viabilidade alterada de maneira significativa (GRÁFICO 11).

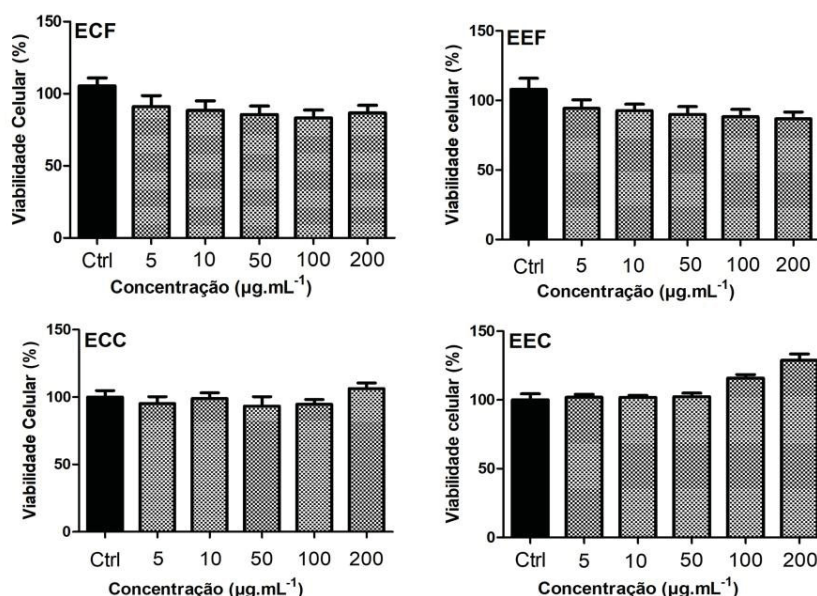
As células da linhagem HeLa são células epiteliais de adenocarcinoma de cérvix uterino e que se apresentam modificadas geneticamente para que não possuam inibição por contato (ALVES; GUIMARÃES, 2010). A viabilidade celular frente aos extratos brutos (ECF, EEF, ECC e EEC) de *P. meridionale* foi reduzida em 10% quando se fez uso do extrato ECC, na concentração de 200 µg.mL⁻¹ e em aproximadamente 16,7% quando se fez uso do extrato EEF, nas concentrações de

100 e 200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, quando comparados ao controle (GRÁFICO 12). Não houve alteração na viabilidade celular quando testados os extratos ECF e EEC.

Calu-3 são células epiteliais derivadas de um sítio metastático de adenocarcinoma de pulmão (ONG; TRAINI; YOUNG, 2013). O extrato ECC foi o que apresentou um efeito citotóxico mais acentuado para as células Calu-3 quando comparadas às demais linhagens celulares, e aos demais extratos (GRÁFICO 13), pois gerou uma maior perda de viabilidade celular. Observou-se diferença estatística significativa para as concentrações de 50, 100 e 200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ em relação ao controle, com um percentual de perda da viabilidade de 22%, 28% e 32% respectivamente.

Suffness e Pezzuto (1990) afirmam que a IC_{50} para extratos brutos (concentração da amostra que induz a morte celular de 50% das células), são consideradas promissoras para posterior estudo quando a concentração for inferior a 30 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, o que não foi obtido com os extratos de *P. meridionale*, e que desse modo, não apresentaram ação antiproliferativa efetiva contra as linhagens analisadas.

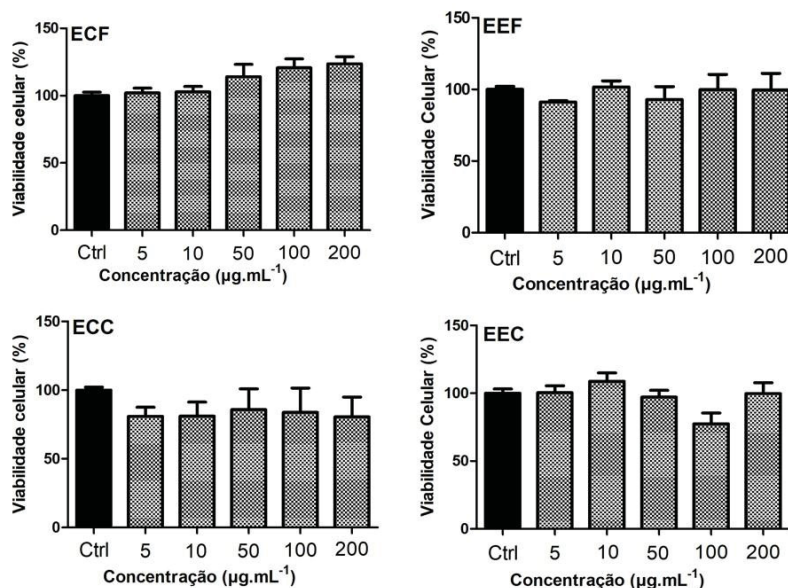
GRÁFICO 10: EFEITO DOS EXTRATOS BRUTOS (ECF, EEF, ECC E EEC) DE *Philodendron meridionale* SOBRE A VIABILIDADE DAS CÉLULAS JURKAT



Tempo de cultura: 72 H. Sendo: Ctrl: Controle negativo; ECF: Extrato Cetônico da Folha; EEF: Extrato Etanólico da Folha; ECC: Extrato Cetônico do Caule; EEC: Extrato Etanólico do Caule. Os valores não são significativamente diferentes em 0,05 (ANOVA e Teste de Tukey).

FONTE: a autora, 2016.

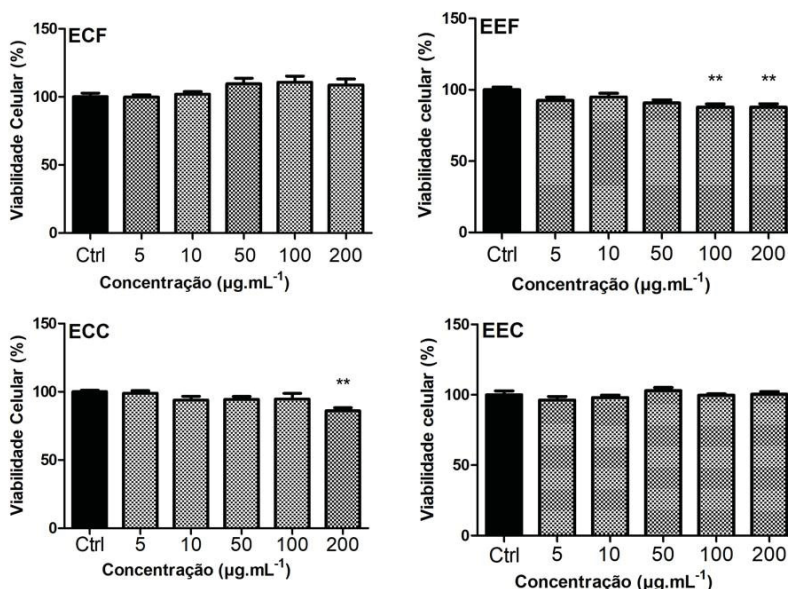
GRÁFICO 11: EFEITO DOS EXTRATOS BRUTOS (ECF, EEF, ECC E EEC) DE *Philodendron meridionale* SOBRE A VIABILIDADE DAS CÉLULAS HRT-18



Tempo de cultura: 72 H. Sendo: Ctrl: Controle negativo; ECF: Extrato Cetônico da Folha; EEF: Extrato Etanólico da Folha; ECC: Extrato Cetônico do Caule; EEC: Extrato Etanólico do Caule. Os valores não são significativamente diferentes em 0,05 (ANOVA e Teste de Tukey).

FONTE: a autora, 2016.

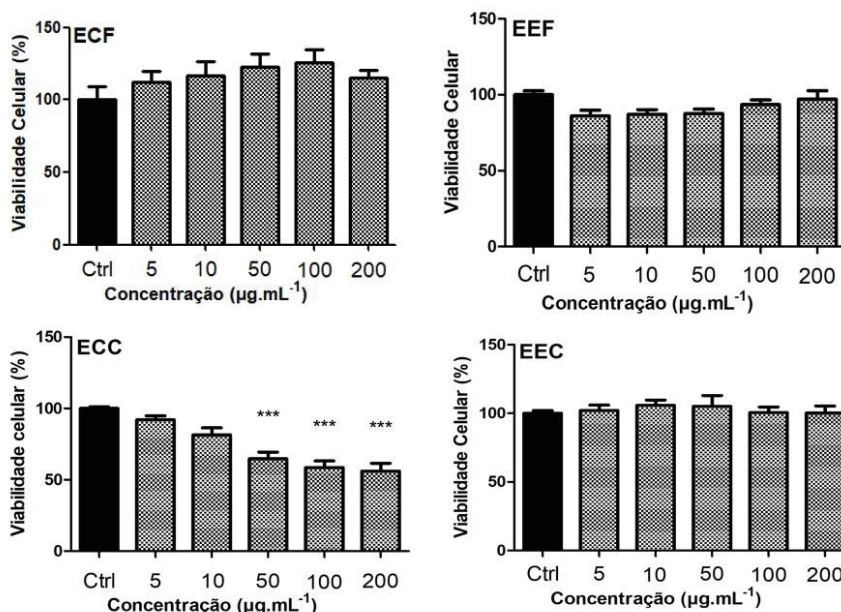
GRÁFICO 12: EFEITO DOS EXTRATOS BRUTOS (ECF, EEF, ECC E EEC) DE *Philodendron meridionale* SOBRE A VIABILIDADE DAS CÉLULAS HELA



Tempo de cultura: 72 H. Sendo: Ctrl: Controle negativo; ECF: Extrato Cetônico da Folha; EEF: Extrato Etanólico da Folha; ECC: Extrato Cetônico do Caule; EEC: Extrato Etanólico do Caule. Os valores seguidos por (**) dentro de cada coluna são significativamente diferentes (ANOVA e Teste de Tukey).

FONTE: a autora, 2016.

GRÁFICO 13: EFEITO DOS EXTRATOS BRUTOS (ECF, EEF, ECC E EEC) DE *Philodendron meridionale* SOBRE A VIABILIDADE DAS CÉLULAS CALU-3



Tempo de cultura: 72 H. Sendo: Ctrl: Controle negativo; ECF: Extrato Cetônico da Folha; EEF: Extrato Etanólico da Folha; ECC: Extrato Cetônico do Caule; EEC: Extrato Etanólico do Caule. Os valores seguidos por (***) dentro de cada coluna são significativamente diferentes (ANOVA e Teste de Tukey).

FONTE: a autora, 2016.

Em relação ao gênero *Philodendron*, Hassanein et al. (2011) demonstraram em seu estudo que o extrato metanólico de *P. selloum* apresentou citotoxicidade para HepG2 (hepatoma humano), através do ensaio de vermelho neutro “*in vitro*”, obtendo um IC₅₀ de 17,51 ± 0,70 µg.mL⁻¹. El-Deeb et al. (2012) utilizando o ensaio SRB (sulforodamina B), testaram o extrato metanólico obtido de folhas de *P. bipinnatifidum* para HepG2, obtendo IC₅₀ de 15,9 µg.mL⁻¹. Posteriormente, por fracionamento do extrato metanólico de *P. bipinnatifidum*, El-Deeb et al. (2012) isolaram e testaram três compostos fenólicos glicosídeos e puderam comprovar as suas ações antiproliferativas contra células da linhagem HepG2, obtendo IC₅₀ de 14,9 µg.mL⁻¹, 23,7 µg.mL⁻¹ e 18,2 µg.mL⁻¹ para cada composto. Em sua análise, os autores atribuem a atividade citotóxica do composto mais ativo, ao maior número de unidades glicosídicas que o composto apresenta.

4.5.4.2 Atividade citotóxica do óleo essencial de *P. meridionale* frente a células Jurkat

A viabilidade celular frente aos óleos essenciais de caules e de folhas de *P. meridionale* apresentou maior redução em cerca de 9,47% quando se fez uso do óleo essencial de folhas, na concentração de 400 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e em aproximadamente 11,32% quando se fez uso do óleo essencial de caules, na concentração de 400 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (TABELA 17). Não foi possível efetuar um cálculo de concentração inibitória média (IC_{50}) pois os valores obtidos para viabilidade celular foram maiores que 50%.

TABELA 17: VIABILIDADE CELULAR PARA A LINHAGEM JURKAT FRENTE AO ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS E DE CAULES DE *Philodendron meridionale*

CONCENTRAÇÃO $\mu\text{g.mL}^{-1}$	ÓLEO ESSENCIAL DE FOLHAS		ÓLEO ESSENCIAL DE CAULES	
	Viabilidade	Redução (%)	Viabilidade	Redução (%)
50	101.85	0	95.01	4,99
100	98.94	1,06	91.69	8,31
200	94.15	5,85	90.32	9,68
400	90.52	9,48	88.68	11,32

Sendo: (%) redução: percentual de morte celular. Os valores não são significativamente diferentes em 0,05 (ANOVA e Teste de Tukey).

FONTE: a autora, 2016.

Muitos compostos obtidos a partir do ent-Kaurene em sua via metabólica apresentaram atividade anticâncer, como por exemplo, em células SK-HEP1 (carcinoma hepatocelular humano) com ativação do AMPK (proteína quinase ativada por adenosina monofosfato) e do citocromo p53, inibição do fator nuclear kB (NF-kB) e da enzima telomerase (RIEHL et al., 2015). Ding et al. (2010) correlacionaram as estruturas de oito diterpenoides ent-kaurene e seus substituintes estruturais com atividades em células tumorais (Hep G2), enquanto Yu et al. (2007), relacionam o uso de Ent-kaurene a apoptose de células Jurkat e de leucemias mieloides HL-60, U937 e K562. Embora os óleos essenciais de caules e de folhas de *P. meridionale* apresentem o Ent-kaur-16-ene como componente majoritário, não demonstraram potencial ação citotóxica mitocondrial (pelo teste do MTT), em relação à linhagem Jurkat, uma vez que o decréscimo na viabilidade celular foi muito baixo na concentração utilizada (TABELA 18), prevalecendo o desenvolvimento celular.

Segundo Sylvestre et al. (2006), atividades citotóxicas para óleos essenciais com valores de IC_{50} 200-300 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ são consideradas muito fracas. Esse fato nos

leva a conclusão de que não devemos considerar que uma substância, embora majoritária, possa apresentar o mesmo efeito quando isolada e quando na composição de óleos essenciais, e que neste trabalho, no que se refere a ação citotóxica sobre células Jurkat, podemos afirmar que o que prevalece é a ação sinérgica dos terpenos encontrados nos óleos essenciais de *P. meridionale*.

4.5.4.3 Análise morfológica das células calu-3 por ação do extrato ECC.

Entre as linhagens celulares testadas, as células Calu-3 foram as que apresentaram maior diminuição da viabilidade celular quando testadas com o extrato ECC, frente ao MTT, e por isso foram analisadas morfolologicamente. A partir da análise das imagens obtidas pela microscopia de fluorescência (FIGURA 41), observa-se presença de células apoptóticas em fase inicial e em fase tardia, mostrando que possivelmente o mecanismo de indução de morte por apoptose possa estar relacionado à citotoxicidade do extrato ECC de *P. meridionale*.

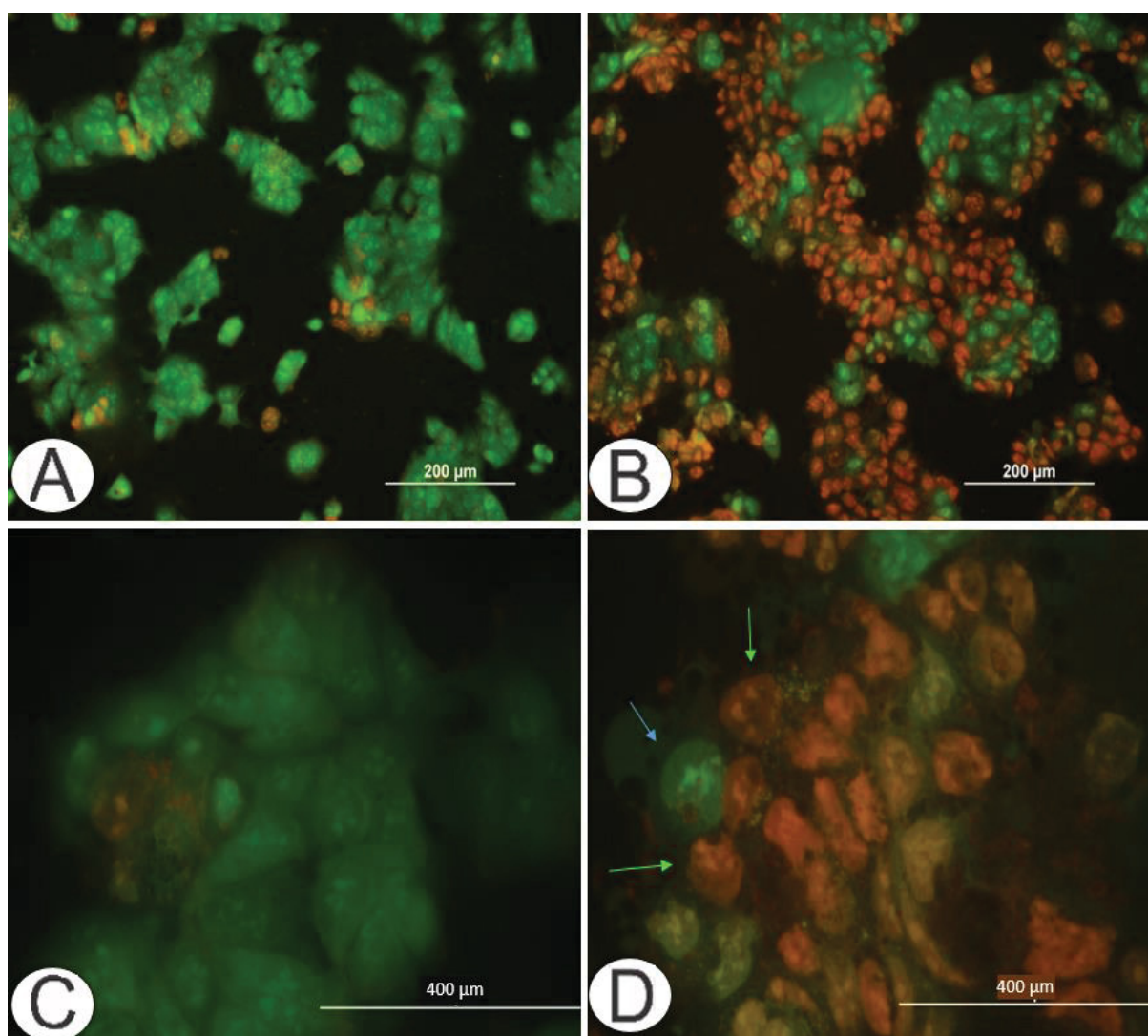
Segundo Ribble et al. (2005) as células viáveis se apresentam com um núcleo normal, com coloração verde e cromatina organizada. Já as células apoptóticas em fase inicial (membranas intactas) caracterizam-se por apresentar o núcleo verde e brilhante, porém sem uniformidade, com condensação ou fragmentação da cromatina; células apoptóticas em fase tardia (perda da integridade da membrana): com condensação de cromatina e áreas alaranjadas no núcleo. As células necróticas são similares às células vivas, exceto que seu núcleo é excepcionalmente laranja e com perda da integridade de membrana.

A apoptose desempenha um papel fundamental em células pré-malignas, que se distingue por várias alterações morfológicas, como a cromatina condensada e o encolhimento celular. A apoptose pode ser uma maneira satisfatória de bloquear o crescimento de células tumorais (BAHARARA; AMINI; NAMVAR, 2016).

O processo de apoptose pode ser desencadeado por meio de duas vias principais, a extrínseca (via receptor na membrana) e a intrínseca (via alteração na mitocôndria). Na via extrínseca, a ativação ocorre associada à sinalização de receptores que são membros da família de receptor de TNF (Fator de Necrose Tumoral). A via intrínseca inicia-se na mitocôndria, por uma série de estímulos como: ausência de fatores de crescimento, hormônios e citocinas, radiação, toxinas, hipóxia, hipertermia, infecção viral, radicais livres, dano ao DNA, entre outros. Esses

estímulos causam alterações na permeabilidade mitocondrial, o que resulta na liberação do citocromo-c para o citoplasma, desencadeando assim o processo apoptótico. Independente do estímulo, a indução de apoptose sempre resulta na ativação das caspases, as quais induzem as modificações funcionais e morfológicas na célula (MACHADO, 2013).

FIGURA 41: MICROSCOPIA ÓPTICA DE FLUORESCÊNCIA DE CÉLULAS CALU-3 POR AÇÃO DO EXTRATO BRUTO ECC DE *Philodendron meridionale*



Sendo: Células Calu-3 coradas com AO (alaranjado de acridina) e BE (brometo de etídio): A- Células controle em aumento de 200x. B: Células tratadas com extrato cetônico do caule pelo período de 24 h, na concentração de $200 \mu\text{g.mL}^{-1}$, aumento de 200x. C: Células controle em aumento de 400x. D: Células tratadas com extrato cetônico do caule pelo período de 24 h, na concentração de $200 \mu\text{g.mL}^{-1}$, aumento de 400x. Flechas azuis indicam células em fase inicial de apoptose, flechas verdes as células em apoptose tardia.

FONTE: a autora, 2016.

Em relação ao efeito do extrato ECC de *P. meridionale* no ciclo celular das células Calu-3, é possível observar que as células tratadas se distribuíram em maior porcentagem na fase Sub G₀, em relação ao controle, e em menor proporção nas outras fases. A diferença estatística significativa foi observada apenas para a fase Sub G₀ (TABELA 18). Um aumento na quantidade de células Calu-3 na fase Sub G₀, caracteriza a presença de fragmentos de DNA, sendo esta, uma das alterações que precedem a morte celular por apoptose. Alterações do ciclo celular nas fases S, G₂/M e G₀/G₁ são indicativos de bloqueio/parada do ciclo (BOSCARDIN, 2012; MACHADO, 2013).

TABELA 18: DISTRIBUIÇÃO PERCENTUAL DAS CÉLULAS CALU-3 TRATADAS COM EXTRATO CETÔNICO DO CAULE DE *Philodendron meridionale* QUANTO ÀS FASES DO CICLO CELULAR.

DISTRIBUIÇÃO DE FASES NO CICLO CELULAR				
Tratamento	Sub G ₀	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
Controle	5,547 ± 0,177	32,66 ± 1,602	23,05 ± 0,770	34,06 ± 0,908
ECC 200 µg.mL ⁻¹	24,06 ± 3,683*	25,96 ± 3,204	19,08 ± 1,035	29,50 ± 0,867

Sendo: ECC: Extrato Cetônico do Caule. Os resultados foram avaliados pelo teste não paramétrico de *Mann-Whitney* e os valores estão expressos como a média ± o erro padrão da média. Os valores (*) são significativamente diferentes em 0,05 (ANOVA e Teste de Tukey).

FONTE: a autora, 2016.

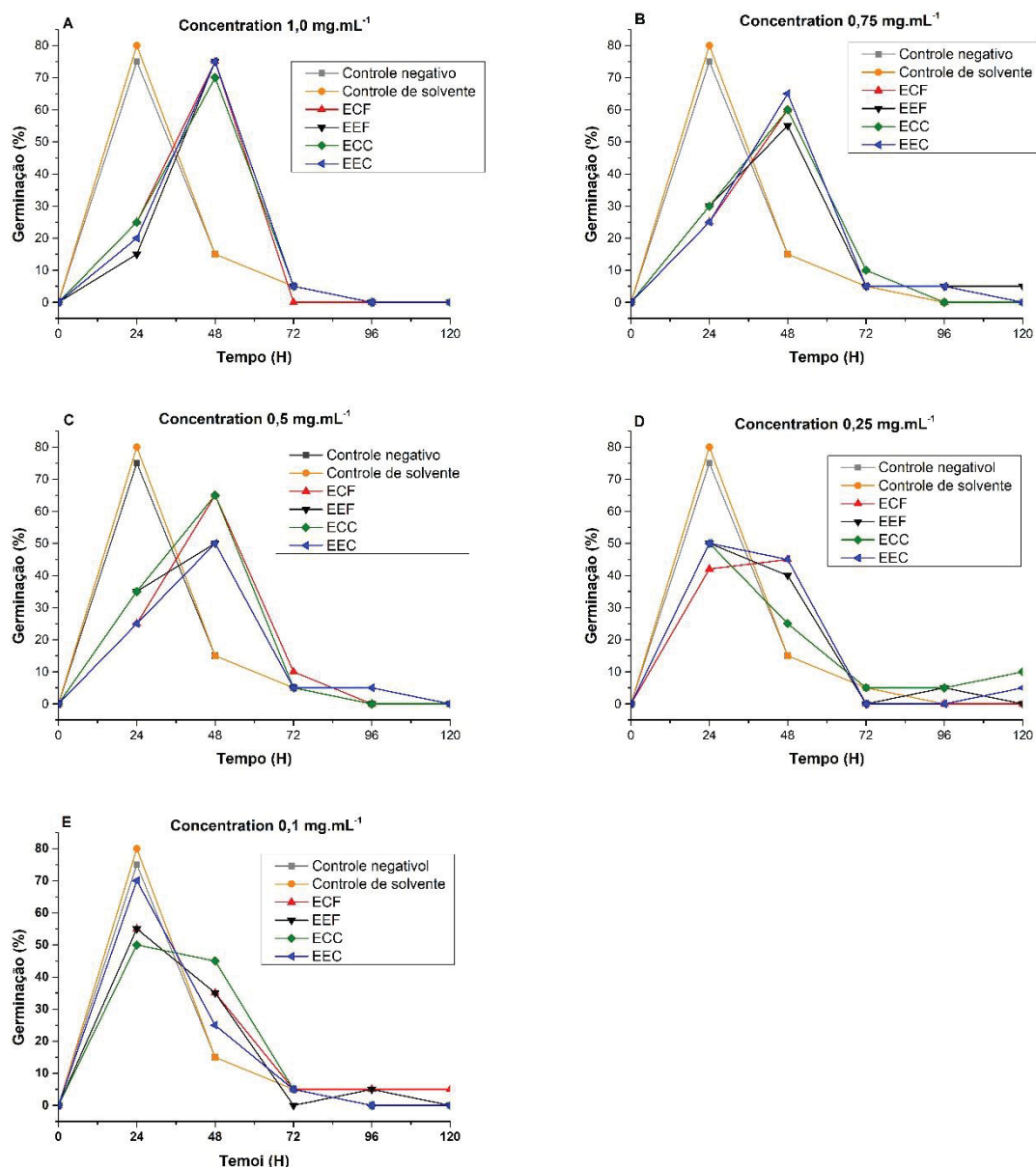
Hassanein et al. (2011) demonstraram que o extrato metanólico de *P. selloum* apresenta citotoxicidade para células HepG2 nas concentrações de 50 e 100 mg.mL⁻¹, valores superiores aos empregados neste trabalho. Por meio da observação microscópica, foi evidenciado que o extrato metanólico de *P. selloum* levou a mudanças degenerativas nas células HepG2, como indução de apoptose, visualizadas por meio da redução do volume celular, condensação da cromatina, além da formação de numerosos vacúolos citoplasmáticos.

4.5.5 Atividade Alelopática

No presente estudo, quando se avaliou o processo de germinação das sementes de *L. sativa* sem qualquer tipo de interferência aleloquímica, obteve-se um percentual de 90% de sementes germinadas. Esse índice pode ser atribuído ao nível de vigor das sementes utilizadas (PÁDUA; VIEIRA, 2001) adquiridas do comércio local, de um mesmo lote, sendo que este resultado foi considerado quando se realizou as demais análises. Não houve diferença no percentual de germinação de

sementes quando se utilizou os extratos de *P. meridionale* em comparação aos controles.

GRÁFICO 14: GERMINABILIDADE DE SEMENTES DE *Lactuca sativa* SOB A AÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS (ECF, EEF, ECC E EEC) DE *Philodendron meridionale* EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES



Sendo: ECF: Extrato Cetônico da Folha; EEF: Extrato Etanólico da Folha; ECC: Extrato Cetônico do Caule; EEC: Extrato Etanólico do Caule obtidos de *P. meridionale*; Controle negativo: água; Controle solvente: MeOH. Tempo de experimento: 120 H.

FONTE: a autora, 2017.

A resistência ou tolerância aos metabólitos secundários que funcionam como aleloquímicos é mais ou menos específica, existindo espécies mais sensíveis que

outras, como por exemplo, *L. sativa* (FERREIRA; AQUILA, 2000), que além disso, é a planta mais comum como espécie alvo para examinar alelopatia entre as hidrófitas, devido tanto ao pequeno período requerido para sua germinação (24 a 48 h), quanto para seu crescimento (ELAKOVICH, 1999).

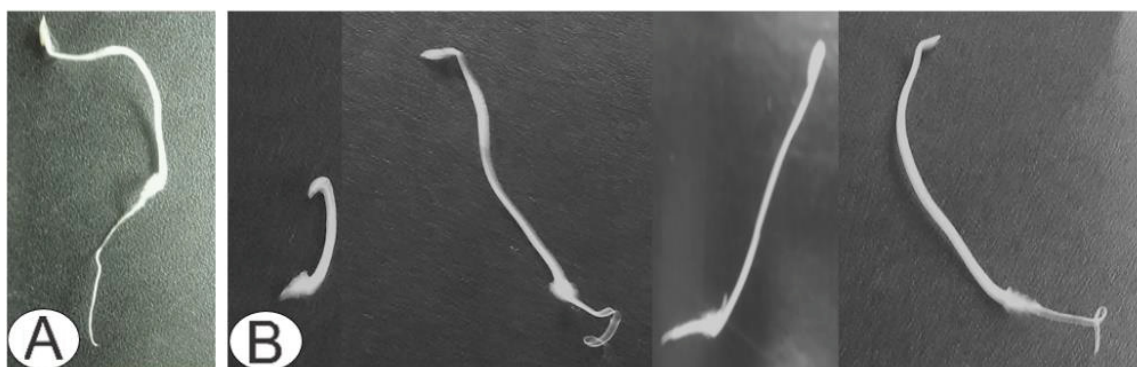
Ao analisarmos a germinabilidade de sementes de *L. sativa* quando em contato com os extratos ECF, EEF, ECC e EEC de *P. meridionale* e os controles, observamos que o tempo médio de germinação ocorreu em 24 h de tratamento para os controles, no entanto, para os extratos houve variação da germinabilidade com a concentração, sendo que, nas concentrações mais elevadas ($0,5 \text{ mg.mL}^{-1}$, $0,75 \text{ mg.mL}^{-1}$ e $1,0 \text{ mg.mL}^{-1}$) o tempo médio de germinação ocorreu em 48 h de tratamento (GRÁFICO 14).

Apesar de as curvas de germinabilidade de sementes de *L. sativa* terem apresentado alterações em relação ao tempo médio de germinação, o mesmo não foi verificado quando se avaliou o IVG, o que provavelmente tenha sido causado pelo fato de que o maior percentual de germinação tenha ocorrido em 48 h de experimento para todos os ensaios e todas as concentrações.

Para Ferreira e Aquila (2000), alterações nas curvas de germinação, bem como nos índices de germinação constituem mudanças de rotas metabólicas inteiras, as quais modificam processos importantes para o desenvolvimento do embrião, afetando sua ontogênese, enquanto Rizvi e Rizvi (1992) acreditam que tais alterações possam ser causadas por mudanças na permeabilidade das membranas celulares, transcrição e tradução de ácido ribonuclêico (RNA), integridade de mensageiros secundários, respiração, conformação de enzimas e receptores, ou uma combinação dessas mudanças. Escudero et al. (2000) afirmam que atrasos na germinação das sementes de qualquer espécie podem ter importantes implicações biológicas ao afetarem o estabelecimento de mudas em condições naturais.

As substâncias presentes nos extratos foram capazes de inibir o crescimento das plântulas em todos os tratamentos realizados nesse estudo, além de causarem alterações no aspecto morfológico das mesmas, como raízes primárias atrofiadas e desproporcionais quando comparadas às demais estruturas da plântula, mais espessas e com excesso de pelos, e até mesmo ausentes em alguns casos (FIGURA 42).

FIGURA 42: ALTERAÇÕES NO ASPECTO MORFOLÓGICO DE RADÍCULAS DE *Lactuca Sativa*, SOB AÇÃO DOS EXTRATOS DE *Philodendron meridionale*.



Sendo: A: Plântula de *L. Sativa* com desenvolvimento normal por ação do controle negativo; B: Plântula de *L. Sativa* com desenvolvimento alterado pela ação dos extratos de *P. meridionale*.

Tempo de experimento: 7 dias.

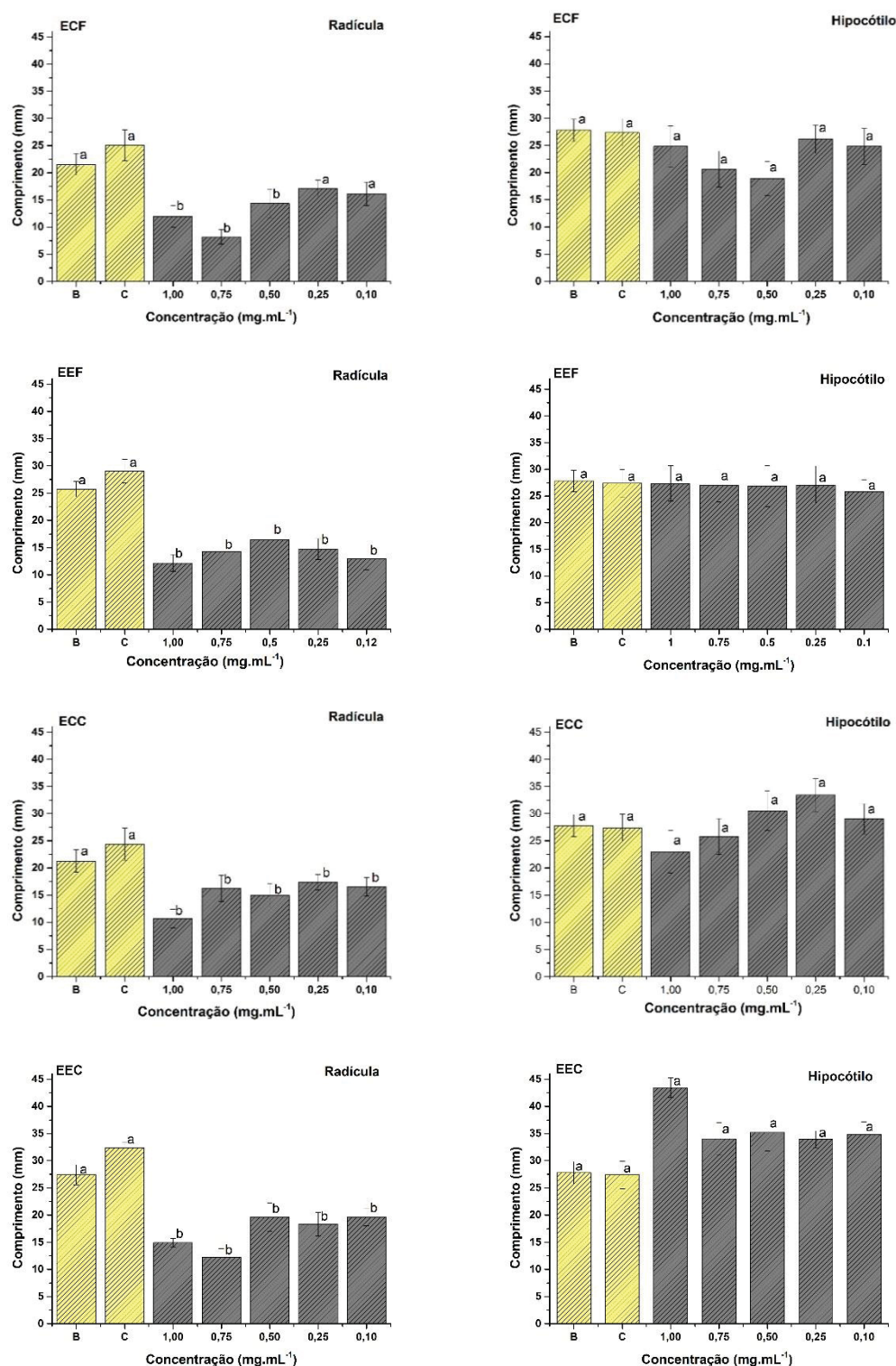
FONTE: a autora, 2017.

No experimento para avaliação do crescimento das plântulas observou-se os efeitos inibitórios dos extratos sobre a radícula, sendo que o mesmo não foi observado para o hipocótilo (GRÁFICO 15). Muitos pesquisadores relataram o mesmo efeito, e sugerem que maiores danos provocados às radículas em comparação ao hipocótilo, deve-se ao contato direto com a solução de aleloquímicos (CRUZ-ORTEGA et al., 1998; CHUNG; AHN; YUN, 2001; CÂNDIDO et al., 2010; GUSMAN; YAMAGUSHI; VESTENA, 2011; AUMONDE et al., 2012).

A interferência sobre o desenvolvimento da raiz primária, observado nesse estudo, é um dos melhores indicadores para o estudo de extratos com potencial alelopático (SOUZA-FILHO; RODRIGUES; RODRIGUES, 1997). O sistema radicular das plantas é o mais sensível a ação de aleloquímicos, porque o seu alongamento depende das divisões celulares, que, se inibidas, comprometem o seu desenvolvimento normal (HOFFMANN et al., 2007).

Munns e Tester (2008) afirmam que o crescimento radicular pode ser restringido tanto pelo déficit hídrico induzido pela osmolaridade elevada da solução quanto pela toxicidade iônica, envolvendo danos metabólicos e fisiológicos. No entanto, Marengo e Lopes (2005) salientam que, como o comprimento da parte aérea não foi reduzido em detrimento da radícula, a possibilidade de os danos vegetais terem sido causados por déficit hídrico devem ser excluídas, evidenciando o efeito tóxico do extrato sobre os fatores de crescimento.

GRÁFICO 15: CRESCIMENTO DE RADÍCULAS E HIPOCÓTILOS DE PLÂNTULAS DE *Lactuca sativa* SOB A AÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS (ECF, EEF, ECC E EEC) DE *Philodendron meridionale* EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES



Sendo: ECF: Extrato Cetônico da Folha; EEF: Extrato Etanólico da Folha; ECC: Extrato Cetônico do Caule; EEC: Extrato Etanólico do Caule obtidos de *P. meridionale*; B: Controle negativo: água; C: Controle solvente: MeOH. Tempo de experimento: 7 dias. Os valores seguidos pelas mesmas letras dentro de cada gráfico não são significativamente diferentes em 0,05 (ANOVA e Teste de Tukey).

FONTE: a autora, 2017.

Todas as concentrações e extratos afetaram a massa seca das plântulas de *L. sativa*, entretanto esse efeito inibitório não foi superior a 20% (TABELA 19). Segundo Hoffmann et al. (2007) a redução das massas das plântulas é um reflexo da redução das estruturas das plântulas devido à ação dos extratos, o que nesse experimento observou-se através das radículas. Outra possibilidade, é a de que por ação dos extratos as plântulas tenham acumulado menor teor de água, o que também vem a interferir em seu crescimento, podendo ser causado por possível alteração na permeabilidade da membrana celular. Tais processos constituem reflexo da elevação na produção e acúmulo de radicais livres, que indiretamente podem ter influenciado negativamente à translocação e alocação de assimilados para a plântula por afetarem a atividade da enzima α -amilase (AUMONDE et al., 2013), e aumentarem as concentrações das enzimas ascorbato peroxidase, catalase e polifenol oxidase frente aos controles (TABELA 19), caracterizando o estresse oxidativo produzido por *P. meridionale* sobre as plântulas de *L. sativa*.

TABELA 19: ATIVIDADE ENZIMÁTICA, RESPIRATÓRIA E MASSA SECA DE PLÂNTULAS DE *Lactuca sativa* SOB A AÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS (ECF, EEF, ECC E EEC) DE *Philodendron meridionale* NA CONCENTRAÇÃO DE 1,0 mg.mL⁻¹

	APX	CAT	PPO	α - AMILASE	RESPIRAÇÃO	MASSA SECA %
ECF	25,44 \pm 0,86*	0.38 \pm 0.01*	20,5 \pm 0.34*	44.48 \pm 0,33*	0,040 \pm 0.12	81,13*
EEF	24,36 \pm 0,13*	0.34 \pm 0.00*	20,1 \pm 0.41*	54.03 \pm 1,07*	0,042 \pm 0.34	80,92*
ECC	33,89 \pm 0,28*	0.28 \pm 0.03*	20,34 \pm 1,83*	46.25 \pm 1,20*	0,053 \pm 0.11	84,11*
EEC	29,94 \pm 0,29*	0.30 \pm 0.01*	19,09 \pm 1,60*	52.59 \pm 1,63*	0,062 \pm 0.21	83,02*
Controle negativo	5,15 \pm 0,13	0.06 \pm 0.01	6,60 \pm 0.07	27,21 \pm 0,88	0,050 \pm 0.24	96,41
Controle solvente	5,88 \pm 0,17	0.06 \pm 0.01	6,73 \pm 0.10	28.81 \pm 2,84	0,060 \pm 0.42	96,39

Sendo: Extratos de *P. meridionale*: ECF: Extrato Cetônico da Folha; EEF: Extrato Etanólico da Folha; ECC: Extrato Cetônico do Caule; EEC: Extrato Etanólico do Caule; Controle negativo: água; Controle solvente: MeOH; APX: ascorbato peroxidase; CAT: catalase; PPO: polifenol oxidase. Tempo de experimento: 7 dias. Os valores seguidos por (*) dentro de cada coluna são significativamente diferentes em 0,05 (ANOVA e Teste de Tukey).

FONTE: a autora, 2017.

Os níveis aumentados das enzimas CAT, APX e PPO, obtidos nesse trabalho, sugerem que foram ativados os sistemas de defesas do vegetal, devido possivelmente a ação química de alelopáticos, provocando um estresse oxidativo nas plântulas de *L. sativa*. Os níveis aumentados da enzima α -amilase caracterizam

uma depressão no sistema energético do vegetal. Esses fatores, segundo Almeida et al. (2008) corroboram com alterações no crescimento das plântulas.

Os aleloquímicos podem atuar diretamente sobre estruturas das sementes e das plântulas, ou como sinalizadores em processos de degradação celular, desencadeando como defesa vegetal, a produção e o acúmulo de formas reativas de oxigênio. Os radicais superóxido ($O_2^{\bullet-}$) podem sofrer uma série de transformações através de processos enzimáticos e se tornarem mais reativos, como H_2O_2 , hidroxil (OH^{\bullet}) ou hidroperoxil (HO_2^{\bullet}) (ALMEIDA et al., 2008), podendo causar danos em processos fisiológicos e alterando o desenvolvimento inicial das plântulas (SOARES; MACHADO, 2007; ALMEIDA et al., 2008; AUMONDE et al., 2015; SILVA et al., 2016).

Com o estresse oxidativo instalado uma série de outras espécies reativas, bem como diversas enzimas antioxidativas, como superóxido dismutase (SOD), ascorbato peroxidase (APX), glutathione redutase (GSH), peroxiredoxina (Prx), catalase (CAT), polifenol oxidase (PPO) e metabólitos, como a glutathione, ácido ascórbico, α -tocoferol e carotenoides são constantemente moduladas com o objetivo de proteção celular (SCANDALIOS, 1993; MITTLER, 2002; WEIR; PARK; VIVANCO, 2004; SOARES; MACHADO, 2007, ALMEIDA et al., 2008; AUMONDE et al., 2012; BARBOSA et al., 2014; PAULA et al., 2015), o que constitui um efeito secundário dos aleloquímicos.

A CAT e a APX são as duas enzimas mais importantes dentre os componentes de desintoxicação do H_2O_2 (BHATT; TRIPATHI, 2011). A atividade da CAT é efetiva ao promover a dismutação de H_2O_2 em água e oxigênio molecular, sendo considerada indispensável para a desintoxicação das espécies reativas de oxigênio.

A APX catalisa a reação em que o ascorbato atua como doador de elétrons para a remoção de H_2O_2 em cloroplastos (NAKANO; ASADA, 1981). O peróxido é reduzido à água e o ascorbato é regenerado pela glutathione produzida a partir da coenzima nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) fotoreduzida nos tilacoides. Essa ação pode elevar os níveis de radical livre ($O_2^{\bullet-}$) (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006). A APX ligada à parede celular também catalisa reações na polimerização de fenóis para a formação de lignina. A formação da lignina significa uma barreira mecânica contra a entrada de substâncias, o que também constitui um sistema de defesa do vegetal (KIRKBY; RÖMHELD, 2007, VIECELLI et al. 2010).

A PPO é uma oxido-redutase responsável por mecanismos de defesa das plantas e pela aparência escura de vegetais cortados, sendo geralmente encontrada em maior atividade em tecidos infectados. A importância da atividade da PPO na resistência a doenças provavelmente seja devida à propriedade de oxidar compostos fenólicos a quinonas, as quais têm ação antimicrobiana, e como polímeros podem formar complexos com proteínas que atuam como barreira física para a penetração de patógenos. (CAMPOS et al., 2004). O fato da enzima PPO estar aumentada nesse estudo sugere que os compostos fenólicos possam estar atuando como aleloquímicos.

O aumento da atividade da enzima α -amilase pode estar relacionado a um aumento de gasto energético por parte das células para a defesa da espécie alvo frente a um agente agressor. A α -amilase é sintetizada durante as primeiras fases da germinação, sendo responsável pela conversão do amido em açúcares utilizados principalmente para o crescimento da plântula (CARVALHO; NAKAGAWA, 1988; PAULA et al., 2015). É uma enzima do grupo das hidrolases que aumentam durante o estresse na mobilização de polímeros para partes da planta que são mais propensas a sobreviver (JACOBSEN; HANSON; CHANDLER, 1986).

Os aleloquímicos também podem alterar a respiração celular de plantas expostas a extratos vegetais. Isso acontece porque os metabólitos secundários interferem em etapas desse processo (CARMO; BORGES; TAKAKI, 2007). Alterações nas membranas celulares afetam o funcionamento das mitocôndrias, o que contribui para a redução do crescimento de plantas (ALMEIDA et al., 2008), uma vez que interferem na cadeia transportadora de elétrons. Os resultados obtidos neste trabalho, demonstram indícios de que tenham ocorrido alterações nas membranas, principalmente no que se referem a sua permeabilidade, no entanto, não foram observadas alterações referentes a respiração das plântulas expostas aos extratos de *P. meridionale* (TABELA 19).

A alelopatia corresponde a influência de um indivíduo sobre o outro, causado por substâncias produzidas pelo vegetal, o que pode ser benéfico ou maléfico (RIZVI; RIZVI, 1992). Alguns metabólitos, majoritariamente provenientes do metabolismo secundário, liberados por espécies vegetais, denominados aleloquímicos, interferem na sobrevivência de outros vegetais no ambiente, influenciando no seu crescimento (BOGATEK; GNIAZDOWSKA, 2007) e podendo afetar os processos de respiração, fotossíntese, atividade enzimática, relações hídricas, abertura de estômatos, nível

de fitormônios, disponibilidade mineral, divisão e alongamento celular, estrutura e permeabilidade de membranas e parede celular, sendo que muitos desses processos ocorrem em função do estresse oxidativo (REZENDE et al., 2003). Assim como os demais metabólitos secundários, as substâncias alelopáticas diferem com a espécie, a idade do órgão da planta, a temperatura, a intensidade luminosa, a disponibilidade de nutrientes e a composição dos solos em que se encontram as raízes (EINHELLIG; LEATHER, 1998).

A fitotoxicidade de muitos produtos químicos alelopáticos pode advir de uma perturbação celular generalizada em vez de um mecanismo específico (EINHELLIG, 1994; BORELLA; PASTORINI, 2009), além de que, os aleloquímicos surgem de muitas classes químicas, desse modo, não se pode esperar que eles possam ter um mesmo mecanismo de ação, o que segundo Reigosa, Sánchez-Moreiras e González (1999), justifica a não necessidade em apresentar relação dose dependente de ação, como foi observado nesse experimento (GRÁFICO 15).

Saponinas, taninos e flavonoides (metabólitos identificados em *P. meridionale*), estão entre os aleloquímicos comumente citados como responsáveis por causarem efeitos alelopáticos diretos e indiretos, podendo ser liberados em condições naturais, já que são hidrossolúveis (RICE, 1984; FERREIRA; AQUILA, 2000; SILVA et al., 2006; GUSMAN; YAMAGUSHI; VESTENA, 2011). As saponinas podem ser fitotóxicas através dos seus efeitos sobre os lípidos da membrana ou por efeitos em enzimas específicas (DUKE; OLIVA, 2005). Ácidos fenólicos agem sobre membranas celulares, resultando em alterações na permeabilidade de membrana, com alterações no fluxo de íons, relações planta-água, função estomática e taxas de fotossíntese e respiração. Também interagem com fitormônios e enzimas, causando alterações na biossíntese de metabólitos (EINHELLIG, 2005). Maraschin-Silva e Aquila (2006), afirmam que flavonoides também atuam alterando a permeabilidade das membranas celulares. Souza, Velini e Maiomoni-Rodella (2003) apontam que a respiração pode ser modificada por compostos aromáticos, aldeídos, fenóis, flavonoides e cumarinas.

Muitos compostos como os monoterpenos, diterpenos e outros com menor polaridade também possuem alta atividade alelopática (FISCHER et al., 1994; ZHAO et al., 2009; LOPEZ; BONZANI; ZYGADLO, 2009; SOUZA-FILHO; GUILHON; SANTOS, 2010). Segundo El-Gawad (2016) a ação alelopática dos terpenos está relacionada a inibição da germinação e do crescimento de plantas, fotossíntese,

respiração, diminuição da permeabilidade da parede celular ou a interferência na atividade hormonal de muitas plantas incluindo ervas daninhas e/ou culturas. Já segundo Duke e Oliva (2005) os efeitos são evidentes na mitose e integridade de membrana.

Yang et al. (2013) verificaram que diferentes concentrações de ent-kaurene (identificado neste trabalho como composto majoritário dos óleos essenciais, e na fração (FrH-CF)) apresentaram duplos efeitos (estimulantes e inibitórios) sobre o crescimento radicular de mudas de *L. sativa*, por ativação da fosfolipase D. Xu et al. (2012) e Schmelz et al. (2014) também obtiveram evidências bioquímicas, por ação da enzima ent-kaurene sintase, que comprovam o efeito alelopático de ent-kaurene. Desse modo é possível que esta substância venha a colaborar com a ação alelopática de *P. meridionale*.

Além desses compostos também podem apresentar atividade alelopática os cristais como as ráfides de oxalato de cálcio e polímeros naturais como os taninos, ligninas e resinas (LUCCHESI; OLIVEIRA, 1988). Todos esses compostos foram identificados no presente estudo e podem ser responsáveis pelos efeitos alelopáticos observados, seja por ações isoladas ou por mecanismo sinérgico, uma vez que os testes foram realizados com os extratos vegetais.

Em relação à família Araceae, Hoffmann et al. (2007) atribuíram a redução da germinação de sementes de *Bidens pilosa* L. (picão-preto) à ação fitotóxica dos oxalatos de cálcio presentes nas soluções aquosas de folhas de *Dieffenbachia picta* Schott ("Comigo ninguém pode" – Araceae), associados a saponinas presente no látex da planta, desempenhando o papel de inibidores de reações enzimáticas no interior das sementes. Aumonde et al. (2013) ao estudarem a atividade alelopática de extratos de folhas de *P. bipinnatifidum*, afirmaram que o mesmo afeta negativamente a atividade da enzima α -amilase e provoca elevação acentuada na atividade das enzimas antioxidantes em plântulas de *L. sativa*, afetando o desempenho fisiológico de sementes e o crescimento de plântulas. Os mesmos autores (AUMONDE et al., 2015), observaram a redução da germinação de sementes, dos teores de clorofila e do comprimento de raiz de plântulas de arroz-vermelho com o aumento da concentração do extrato de *P. bipinnatifidum*. Também houve incremento na peroxidação lipídica e na atividade das enzimas SOD e APX.

Esses fatores relacionam a família Araceae e o gênero *Philodendron* à ação alelopática, para o que se sugere maior investigação. A caracterização e os testes

biológicos realizados com produtos naturais têm levado ao desenvolvimento e uso industrial de diferentes produtos à base de espécies nativas, sendo utilizados como pesticidas contra ervas daninhas, insetos e larvas. É crescente a busca por bio-pesticidas com novos modos de ação, baixo potencial de resíduos e menos efeitos nocivos sobre os organismos não-alvo (EL-GAWAD, 2016).

4.5.6 Atividade inseticida frente *Ctenocephalides felis*

Os óleos essenciais de folhas e de caules de *P. meridionale* apresentaram atividade inseticida contra *C. felis*, uma vez que causaram 100% de inabilidade seja por ação fumegante ou por aplicação tópica.

No ensaio com ação fumegante, obteve-se valores de KT_{50} (min) equivalente a 7,35 para óleo essencial do caule, 9,61 para o óleo essencial da folha, e 17,24 para o controle positivo, sendo que não houve inabilidade com o controle negativo em até 360 min de exposição. Na aplicação tópica os resultados de KT_{50} (min) foram de 20,0 para óleo essencial do caule, 14,70 para o óleo essencial da folha, e 36,76 para o controle positivo e não foi possível detectar o valor de KT_{50} (min) para o controle negativo, pois após 360 min de exposição apenas 0,7% dos espécimes estavam dentro dos parâmetros estabelecidos para determinação deste valor. A porcentagem de inabilidade é apresentada na (TABELA 20).

TABELA 20: INABILIDADE (%) EM *Ctenocephalides felis* POR AÇÃO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DAS FOLHAS E CAULES DE *Philodendron meridionale*

Tempo (min)	AÇÃO FUMEGANTE (%)				AÇÃO TÓPICA (%)			
	Controle Negativo	Controle Positivo	Óleo Caule	Óleo Folha	Controle Negativo	Controle Positivo	Óleo Caule	Óleo Folha
10 – 20	0	52	68	16	0	0	16	34
20 – 30	0	16	16	42	0	16	34	34
30 – 40	0	16	16	0	0	16	34	16
40 – 50	0	16	-	42	0	16	0	16
50 – 60	0	-	-	-	0	16	16	-

Os valores correspondentes ao controle positivo e óleos essenciais de caules e de folhas, não são significativamente diferentes numa mesma concentração em 0,05 (ANOVA e Teste de Tukey).

FONTE: a autora, 2017.

Os resultados de KT_{50} determinados neste estudo, revelam a eficácia da atividade inseticida de óleo essenciais de caules e de folhas de *P. meridionale* para *C. felis*, obtida tanto por ação fumegante quanto por imersão, quando comparados ao controle positivo (que apresentou tempo de inabilidade maior) ou a outros estudos

(YANG et al., 2004; TOLOZA et al., 2006; TOLOZA et al., 2008). Yang et al. (2004), utilizando o teste com ação fumegante contra *Pediculus humanus capitis* Linnaeus, encontraram valores de KT_{50} de 6,2 min para o óleo de *Eucalyptus cinérea* F. Muell., muito próximo do que foi obtido neste estudo. Toloza et al. (2008) em estudo com as plantas *Eucalyptus grandis* W. Hill, *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh, *Eucalyptus tereticornis* Smith obtiveram os valores de KT_{50} (min) de 25,57, 35,01 e 31,31, respectivamente, valores maiores do que foi obtido neste estudo. Já Toloza et al. (2006) obtiveram um tempo de inabilidade muito rápida (1,20 min) com o óleo de *Myrcianthes cisplatensis* (O. Berg) D. Legrand.

Ctenocephalides felis (FIGURA 43), é a pulga mais prevalente em cães e é responsável por uma diversidade de casos dermatológicos na medicina veterinária (incluindo a dermatite alérgica à pulga), e podendo agir como vetores de bacterioses (*Bartonella* sp., rickettsiose) e como hospedeiro intermediário para filarioides e cestoides, parasitas e viroses (MEHLHORN; SCHMAHL; SCHMIDT, 2005; LANS; TURNER; KHAN, 2008; BATISTA et al., 2016).

FIGURA 43: *Ctenocephalides felis*



Fonte: Imagem cedida pela Dra Ivana de Freitas Bárbola

Os metabólitos secundários desempenham um papel importante na resistência das plantas aos insetos, o que segundo Ibrahim et al. (2001) podem apresentar toxicidade através da penetração da cutícula do inseto (efeito de contato), através do sistema respiratório (efeito fumegante) e via aparelho digestivo (efeito de ingestão). As características físico-químicas dos óleos essenciais interferem na ação inseticida, nas etapas toxocinética e toxicodinâmicas (penetração, distribuição, metabolismo e interação com o sítio de ação), uma vez que a lipofilicidade das moléculas presentes em óleos essenciais permite fácil permeabilidade no tegumento

do inseto (ação tóxica), além de serem caracterizados por uma alta tensão de vapor, o que possibilita a sua ação fumegante (SFARA; ZERBA; ALZOGARAY, 2009). Ellse e Wall (2014) acreditam que a ação fumegante esteja relacionada com uma via neurotóxica, em vez de simplesmente ação mecânica. Esse fato pode ser confirmado por Genovese, Mclean e Khan (2012) quando comentam sobre a possível interferência dos óleos como neuromoduladores dos receptores do ácido gama amino butírico (GABA) e da octopamina. Também, a natureza hidrofóbica dos óleos pode exercer efeitos mecânicos sobre o parasita, como inibição da capacidade de excretar água por transpiração, provocando estresse osmótico ou sufocação (BURGESS, 2009; ELLSE; WALL, 2014) ou como inibidores competitivos da enzima acetilcolinesterase ocupando a área hidrofóbica do centro ativo da enzima (RYAN; BYRNE, 1988). Sabe-se também, que o comportamento alimentar dos insetos depende da integração do sistema nervoso central com os quimiorreceptores localizados nas pernas, partes da boca e a cavidade bucal, e que os inseticidas podem atuar sobre os quimiorreceptores para inibir a alimentação, caracterizando a ação antifeedante (SANTIAGO et al., 2014).

Além dos efeitos provocados pelas características físico-química dos óleos, o Ent-kaur-16-ene como componente majoritário, é precursor de substâncias que poderiam estar exercendo o efeito inseticida obtido neste trabalho, no entanto, não se pode deixar de considerar que as concentrações e as atividades sinérgicas ou complementares do conjunto de terpenos presentes nos mesmos óleos desempenham um papel extremamente importante na atividade inseticida final (IBRAHIM et al., 2001; YANG et al., 2004; ELLSE; WALL, 2014; REIS et al., 2016). O sesquiterpeno D-germacrene, outro composto majoritário do óleo essencial de caules de *P. meridionale*, também apresentou potencial ação contra mosquitos quando testado contra *Anopheles Gambiae* (Shannon), *Culex quinquefasciatus* (Linnaeus) e *A. aegypti* (HENRIQUES; DANIELLI; APEL, 2016).

Os óleos essenciais participam dessa pesquisa como uma alternativa ao combate a ectoparasitas devido às restrições ao uso de alguns inseticidas, como os organoclorados, organofosforados e piretroides, por seus efeitos sobre a saúde humana e o meio ambiente, assim como para uso na agricultura orgânica (ELLSE e WALL, 2014). No entanto, a capacidade de acumular óleos voláteis não é uma característica de todos os vegetais e no caso de *P. meridionale* está associada à presença de estruturas anatômicas especializadas como células secretoras

(idioblastos) e cavidades ou ductos no interior de tecidos vegetais, uma vez que não apresenta tricomas glandulares (SWIECH et al., 2016). A característica dos ensaios realizados neste trabalho, por atividade tópica e fumegante, associados a identificação dos terpenos e evidenciando o seu componente majoritário, Ent-kaur-16-ene, indicam diversas possibilidades para o seu mecanismo de ação, tanto por ação neurológica, quanto alimentar, respiratória ou mecânica, sendo necessário mais estudos para a comprovação desse comportamento.

Na natureza, as substâncias voláteis dos óleos essenciais, desempenham um papel importante na proteção das plantas como antibacterianos, antivirais, antifúngicos, inseticidas e contra herbívoros, reduzindo seu apetite por tais plantas. Eles também podem atrair alguns insetos para favorecer a dispersão de pólenes e sementes, ou repelir outros indesejáveis (BAKKALI et al., 2008).

4.5.7 Atividade larvica frente a *Plutella xylostella*

Quando se avaliou a atividade larvica dos extratos brutos (ECF, EEF, ECC e EEC) de *P. meridionale*, seja por imersão dos discos de couve portuguesa nos extratos ou por aplicação tópica de extratos sobre a larva, obteve-se um alto índice de mortalidade larval (TABELA 21), sendo que para alguns extratos obteve-se 100% de mortalidade, resultado superior ao controle positivo.

TABELA 21: PERCENTUAL DE MORTALIDADE DE *Plutella xylostella* FRENTE AOS DOS EXTRATOS BRUTOS (ECF, EEF, ECC E EEC) DE *Philodendron meridionale*

	AÇÃO POR IMERSÃO (%)	AÇÃO TÓPICA (%)
	48 h Tratamento	40 h tratamento
ECF	100	---
EEF	84	96
ECC	80	83
EEC	78	100
Controle Positivo	86	97
Controle negativo	12*	10*
Controle solvente 1	34*	24*
Controle solvente 2	12*	27*

Sendo: Extratos de *P. meridionale*: ECF: Extrato Cetônico da Folha; EEF: Extrato Etanólico da Folha; ECC: Extrato Cetônico do Caule; EEC: Extrato Etanólico do Caule; Controle Positivo: ciantraniliprole. Controle negativo: água; Controle solvente 1: Hexano; Controle solvente 2: Etanol. Os valores (*) são significativamente diferentes numa mesma concentração em 0,05 (ANOVA e Teste de Tukey).

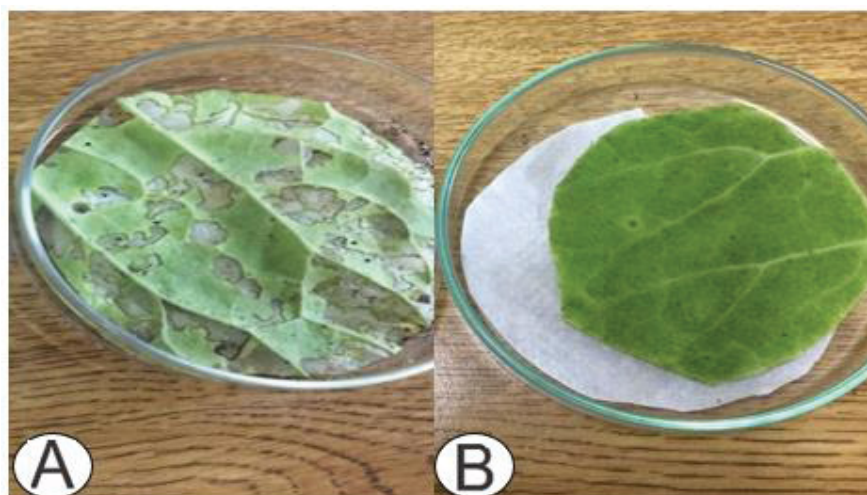
FONTE: a autora, 2016.

Em experimento semelhante, utilizando extrato de *Furcraea hexapetala* (Jacq.) Urban, por imersão, na concentração de 12,5%, Jiménez et al. (2016),

obtiveram mortalidade para larvas de *P. xylostella* equivalente a 17,5% com 48 h de tratamento e 27,5% com 72 h de tratamento. Leyva et al. (2017) por ação tópica, com extrato de *Euphorbia lactea* Haw na concentração de 12,5%, obtiveram 40% de mortalidade para larvas de *P. xylostella* com 48 h de tratamento e 44% de mortalidade para 72 h de tratamento. Esses resultados vêm a confirmar a expressividade dos resultados obtidos nesse trabalho.

Na aplicação por imersão, foi observado a redução da alimentação de lagartas de *P. xylostella* (FIGURA 44). A folha de couve portuguesa apresentou-se escurecida após imersão na solução hexânica do extrato (ECF), o que poderia ter reduzido o interesse das larvas pela mesma, promovendo 100% de mortalidade pela falta de alimentação. No entanto, quando se fez uso das soluções etanólicas dos extratos (EEF, ECC e EEC) por imersão, não houve alteração de cor ou da aparência da couve portuguesa, e o índice de mortalidade obtido ficou entre 78 e 84%, caracterizando a ação de substâncias tóxicas para as larvas nos extratos vegetais.

FIGURA 44: REDUÇÃO DA ALIMENTAÇÃO DE *Plutella xylostella* POR AÇÃO DO EXTRATO EEC DE *Philodendron meridionale*



Sendo: A: Folha de couve portuguesa tratada com água (Controle negativo); B: Folha de couve portuguesa tratada com EEC; EEC: Extrato Etanólico do Caule;
FONTE: a autora, 2016.

Segundo Torres et al. (2006), essa alteração do ciclo biológico é de grande importância, pois os extratos afetam a fase de maior importância dessa praga, a fase larval, podendo reduzir os danos na cultura. Assim, o uso de extratos de *P. meridionale* podem ser considerados como de interesse em programas de manejo integrado de controle de pragas em brássicas (plantas da família Brassicaceae),

necessitando maiores estudos com aplicações em casa de vegetação e identificação dos componentes químicos envolvidos nessa atividade.

Plutella xylostella (Lepidoptera:Yponomeutidae) é a principal praga da cultura do repolho e da couve, sendo conhecida como “traça-das-crucíferas”. O controle químico é o método mais empregado para reduzir os danos por ela causados (VILLAS BÔAS et al., 2004; SEENIVASAGAN; PAUL, 2011), sendo que muitas vezes, são realizadas aplicações sucessivas de produto, o que pode proporcionar a seleção de populações resistentes (TORRES et al.; 2006). Segundo Jiménez et al. (2016), o uso de extratos vegetais pode romper o ciclo vicioso dos agroquímicos e dessa maneira ajudar a recuperar a estabilidade dos agrossistemas. Esse fato vem demonstrar a importância desse trabalho, com a utilização de produtos naturais para o combate a pragas.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Procurou-se com este estudo, apresentar as características químicas e físicas do vegetal *P. meridionale*, onde foram quantificados os padrões de cinzas e umidade, e foi avaliado a sua decomposição térmica. Os resultados obtidos constituem parâmetros a serem utilizados no controle de qualidade do espécime vegetal.

As características morfoanatômicas de órgãos vegetais de *P. meridionale* devem ser avaliados como um todo para que o taxon possa ser caracterizado. No entanto, as seguintes estruturas devem ser destacadas como características distintivas do gênero *Philodendron*: folhas hipostomásticas com - estômatos braquiparatetracítico, nervura central com forma plano-convéxica, pecíolo e caule cilíndricos, e a presença de drusas e ráfides nos órgãos vegetativos, que em espectroscopia de dispersão atômica foram caracterizados como cristais de oxalato de cálcio.

Os óleos essenciais de folhas e de caules de *P. meridionale* são uma importante fonte de constituintes químicos, sendo que 62 deles foram identificados neste trabalho, principalmente sesquiterpenos e diterpenos, ao que se sugere que caules e folhas são constituídos por de óleo-resina. É possível que o componente majoritário Ent-kaur-16-ene, presente em folhas e caules de *P. meridionale*, colabore com os efeitos biológicos obtidos neste trabalho, mas a ação sinérgica de todos os constituintes parece prevalecer. Em análises futuras sugere-se o isolamento do composto Ent-kaur-16-ene para determinação do percentual de ação do mesmo nos resultados obtidos com os testes biológicos, neste trabalho.

Os extratos brutos e frações de *P. meridionale* são capazes de inibir a oxidação por peroxidação lipídica, redução do complexo fosfomolibdênico e da capacidade de sequestro do radical livre DPPH[•], e de provocar hemólise em cerca de 50% de hemácias. A caracterização dos metabólitos secundários presentes nos extratos cetônicos e etanólicos de folhas e de caules de *P. meridionale*, demonstrou a presença de saponinas, esteroides, terpenos, flavonoides, taninos, cumarinas e antraquinonas, tendo sido considerado como uma alta concentração de compostos fenólicos. Da fração hexânica do extrato cetônico da folha, foi isolado o composto p-mantane e identificados outros 28 compostos. Outros compostos podem ser

identificados em análises futuras, com as demais frações e extratos obtidos deste trabalho, colaborando com a caracterização química da espécie.

Os extratos de *P. meridionale*, apresentam ações aleloquímicas sobre *L. sativa*, as quais podem estar relacionadas a alterações da permeabilidade das membranas e ao estresse oxidativo provocado nas plântulas, tendo sido evidenciadas por alterações na germinabilidade de sementes, em processos enzimáticos e na morfologia de radículas. A identificação de saponinas, cristais de oxalato de cálcio e compostos fenólicos, entre eles flavonoides, caracterizam aleloquímicos com potencial ação herbicida, podendo ser utilizados no controle de agentes biológicos. Testes em casas de germinação e com outras espécimes vegetais podem vir a caracterizar dosagens específicas, assim como estudos bioquímicos podem comprovar o mecanismo de ação alelopático.

Os óleos essenciais de caules e de folhas de *P. meridionale*, assim como os extratos brutos (ECF, EEF, ECC e EEC) podem ser utilizados como bio-pesticidas, uma vez que apresentaram alta eficiência no combate a *C. felis*, e a *P. xylostella* tanto por ação tópica ou por imersão, quanto por ação fumegante, mas que no entanto, não apresentaram ação antimicrobiana frente aos microorganismos (*Candida albicans*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*), nem foram potencialmente eficientes em alterar a atividade enzimática das mitocôndrias nas diferentes linhagens de células analisadas (Jurkat, Hela, Calu e HRT), e assim iniciar uma lesão preliminar que leve à morte celular. Esse fato, permite considerar a inclusão destes óleos essenciais e extratos em formulações que possam ser aplicadas em animais sem maiores danos celulares.

A ação conjunta desses aleloquímicos, e os sinergismos possíveis em um extrato e óleo vegetal, faz com que o mesmo constitua matéria prima adequada para uso em culturas, principalmente orgânicas, provocando menor impacto aos sistemas não alvos.

REFERÊNCIAS

- ABU-REIDAH, I.M.; ALI-SHTAYEH, M.S.; JAMOUS, R.M.; ARRÁEZ-ROMÁN, D.; SEGURA-CARRETERO, A. HPLC–DAD–ESI-MS/MS screening of bioactive components from *Rhus coriaria* L. (Sumac) fruits. **Food Chem**, v.166, p.179–191, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.011>
- ACEBEY, A; KROMER, T; MAASS, B.L.; KESSLER, M. Ecoregional distribution of potentially useful species of Araceae and Bromeliaceae as non-timber forest products in Bolivia. **Biodivers Conserv**, v.19, n.9, p.2553-2564, 2010. <https://doi.org/10.1007/s10531-010-9859-0>.
- AEBI, H. Catalase *in vitro*. **Meth Enzymol**, v.105, p.121–126, 1984. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
- ALLIANCE, D.; SANTOS, C.B.R.; BARBOSA, L.M.C.; GOMES, J.S.; LOBATO, C.C.; VIANA, J.C.; RAMOS, R.S.; FERREIRA, R.M.A.; SOUTO, R.N.P. Chemical study, predictions “*In Silico*” and larvicide activity of the essential oil of root *Philodendron deflexum* Poepp. **J Comput Theor Nanosci**, v.14, n.7, p.3330-3337, 2017. <https://doi.org/10.1166/jctn.2017.6630>.
- ALMEIDA, G.D.; ZUCOLOTO, M.; ZETUN, M.C.; COELHO, I.; SOBREIR, F.M. Estresse oxidativo em células vegetais mediante aleloquímicos. **Rev Fac Nac Agron Medellin**, v.61, n.1, p.4237-4247, 2008.
- ALVES, S.F.; OLIVEIRA, G.F.L.; JORGE, C.A.; BARROS, G.C.; SILVA, E.M.; PAULA, J.R.; BARA, M.T.F. Prospecção fitoquímica e ensaios de pureza de sete plantas medicinais usadas na fitoterapia ayurvédica. **Rev Eletr Farm**, c.4, n.2, p.118-120, 2007.
- ALVES, E.A., GUIMARÃES, A.C.R. **Conceitos e métodos para formação de profissionais em laboratórios de saúde**. v.2. Rio de Janeiro, Cap.5., p.215, 2010.
- AMAKO, K.; CHEN, G.; ASADA, K. Separate assays specific for ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase and for the chloroplastic and cytosolic isozymes of ascorbate peroxidase in plants. **Plant Cell Physiol**, v.35, n.3, p.497–504, 1994. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a078621>
- AMARAL, M.D.P.H.D.; VIEIRA, F.P.; LEITE, M.N.; AMARAL, L.H.; PINHEIRO, L.C.; FONSECA, B.G.; PEREIRA, M.C.S.; VAREJÃO, E.V. Determinação do teor de cumarina no xarope de guaco armazenado em diferentes temperaturas. **Rev Bras Farmacog**, v.19, p.607-611, 2009. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2009000400017>
- ANDERSON, M.D.; PRASAD, T.K.; STEWART, C.R. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotylus of maize seedlings. **Plant Physiol**, v.109, n.4, p.1247-1257, 1995.
- ANDREWS, J.M. Determination of minimum inhibitory concentrations. **J**

Antimicrob Chemother, v.48, p.5-16, 2001.

ADAMS, R. P. **Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/mass Spectrometry**. Allured Publishing Corporation, 4 Ed, 2007, 804p.

ANGELO, P.M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos -uma breve revisão. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v.66, n.1, p.01-09, 2007.

ANLIKER, M.C.; HEIJNEN, I.A.F.M.; WÜTHRICH, B. Allergische rhinitis auf die zierpflanze *Philodendron bipennifolium*: Nachweis von spezifischem IgE und positive reaktion auf provokation mit blätterextrakt. **Allergologie**, v.27, n.5, p.211–214, 2004. <http://dx.doi.org/10.5414/ALP27211>

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia Brasileira**, volume 1., 5ª Ed. Brasília, 2010.

AOAC. Association of Official Agricultural Chemists. **Official methods of analysis**. 10.ed. Washington: Editorial Board, 1965, 656p.

APARICIO, R.M.; GARCIA-CELMA, M.J.; VINARDELL, M.P.; MITJANS, M. *In vitro* studies of the hemolytic activity of microemulsions in human erythrocytes. **J Pharm Biomed Anal**, v.39, p.1063-1067, 2005. <http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672009000400026>

ARAGÃO, C.F.S.; SOUZA, F.S.; BARROS, A.C.S.; VERAS, J.W.E.; BARBOSA FILHO, J.M.; MACEDO, R.O. Aplicação da termogravimetria (TG) no controle de qualidade da milona (*Cissampelos sympodialis* Eichl.) Menispermaceae. **Rev Bras Farmacog**, v.12, p.60-61, 2002. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-695X2002000300029>

ARAÚJO, A.A.S.; MERCURI, L.P.; SEIXAS, S.R.S.; STORPIRTIS, S.; MATOS, J.R. Determinação dos teores de umidade e cinzas de amostras comerciais de guaraná utilizando métodos convencionais e análise térmica. **Braz J Pharm Sci**, v.42, n.2, p.269-276, 2006. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-93322006000200013>

ARDITTI, J., RODRIGUEZ, E. *Dieffenbachia*: Uses, abuses and toxic constituents: A review. **J Ethnopharmacol**, v.5, n.3, p.293-302, 1982.

ASLAM, F.; RIAZ, M.; ZUBAIR, M.; RIZWAN, K.; ABBAS, M.; BUKHARI, T.H.; BUKHARI, I.H. Antioxidant, haemolytic activities and GC-MS profiling of *Carissa carandas* roots. **Intern J Phytomed**, v.3, p.567-578, 2012.

ASTM - American Society for Testing and Materials. **Annual Book of ASTM Standards: Metals Test Methods and Analytical Procedures**, v.3, n.2 e 3, 1983.

AUMONDE, T.Z.; MARTINAZZO, E.G.; BORELLA, J.; PEDÓ, T.; AMARANTE, L.; VILLELA, F.A.; MORAES, D.M. Alterações fisiológicas em sementes e metabolismo antioxidativo de plântulas de alface expostas à ação do extrato das folhas de *Zantedeschia aethiopica* Spreng. **Interciência**, v.37, n.11, p. 845-851, 2012.

AUMONDE, T.Z.; MARTINAZZO, E.G.; PEDÓ, T.; BORELLA, J.; AMARANTE, L.; VILLELA, F.A.; MORAES, D.M. Respostas fisiológicas de sementes e plântulas de alface submetidas ao extrato de *Philodendron bipinnatifidum*. **Semina: Ciên Agr**, Londrina, v.34, n.6, suplemento 1, p.3181-3192, 2013.

<http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2013v34n6Supl1p3181>

AUMONDE, T.Z.; MARTINAZZO, E.G.; BORELLA, J.; PEDÓ, T.; AMARANTE, L.; VILLELA, F.A.; MORAES, D.M. Desempenho fisiológico e metabolismo antioxidativo de plântulas de arroz-vermelho sob ação do extrato de *Philodendron bipinnatifidum* Schott. **Iheringia Sér Bot**, v.70, n.1, p.47-56, 2015.

BACCHUS, N.E.; OLIVEIRA, W.N.; MARANGON, C.; MORAES, C.M.

Caracterização química do óleo essencial de *Philodendron sp.* no Município de São João da Baliza, Roraima. **Orbital: Electron J Chem**, v.7, n.4, p.376-381, October – December, 2015. <http://dx.doi.org/10.17807/orbital.v7i4.774>

BAHARARA, J.; AMINI, E.; NAMVAR, F. Evaluation of the anti-proliferative effects of *Ophiocoma erinaceus* methanol extract against human cervical cancer cells. **Avicenna J Med Biotechnol**. v.8, n.1, p.29-35, 2016.

BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D.; IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils: a review. **Food Chem Toxicol**, v.46, p.446-475, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>.

BARBOSA, M.R.; SILVA, M.M.A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T.R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciênc Rur**, Santa Maria, v.44, n.3, p.453-460, 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782014000300011>

BARREIRO, E.J.; MANSUR, C.A. **Química Medicinal: As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos**. ArtMed Editora Ltda: Porto Alegre, 2008, 536p.

BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, E.J.M.; DAVID, J.P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quim Nova**, v.29, n.1, p.113-123, 2006. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422006000100021>.

BATISTA, L.C.S.O.; CID, Y.P.; ALMEIDA, A.P.; PRUDÊNCIO, E.R.; RIGER, C.J.; SOUZA, M.A.A.; COUMENDOUROS, K.; CHAVES, D.S.A. *In vitro* efficacy of essential oils and extracts of *Schinus molle* L. against *Ctenocephalides felis felis*. **Parasitology**, v.143, p.627–638, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>

BENÍCIO, D.A.; QUEIROGA NETO, V.; SOUSA, J.G. Avaliação das propriedades físico-químicas e da composição química parcial do óleo de sementes de nim indiano (*Azadirachta indica* A. Juss), cultivado no município de Patos - Paraíba. **Anais eletrônicos do VI congresso de iniciação científica da Universidade Federal de Campina Grande**. Paraíba, 2009.

BERLYN, G.P.; MIKSCHE, J.P. **Botanical Microtechnique and Cytochemistry**. Ames: Iowa State University. v. 276, 1976, 121 p.

BEZERRA, M.Z.B.; ANDRADE-NETO, M.; FREITAS, R.M.; FEITOSA, C.M. The root oil of *Philodendron imbe* Schott (Araceae). **J Essent Oil Res**, v.14, p.56–57 2002. <https://doi.org/10.1080/10412905.2002.9699763>

BHATT, I.; TRIPATHI, B.N. Plant peroxiredoxins: catalytic mechanisms, functional significance and future perspectives. **Biotechnol Adv**, v.29, p.850-859, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.07.002>

BLOIS, M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, v.181, p.1199-1959, 1958.

BOBEK, V.B.; ALMEIDA, V.P.; PEREIRA, C.B.; HEIDEN, G.; DUARTE, M.R.; BUDEL, J.M.; NAKASHIMA, T. Comparative pharmacobotanical analysis of *Baccharis caprariifolia* DC. and *Baccharis erioclada* DC. from Campos Gerais, Paraná, Southern Brazil. **Lat Am J Pharm**, v.34, n.7, p.1396-1402, 2015.

BOGATEK, R.; GNIAZDOWSKA, A. ROS and phytohormones in plant-plant allelopathic interaction. **Plant Signal Behav**, v.2, n.4, p.317-318, 2007.

BOOTH, H.; EVERETT, J.R.; FLEMING, R.A. Carbon-13 Magnetic Resonance Studies of Cyclic Compounds. **Org Magn Resonance**, v.12, n.2, p.63-6, 1979.

BORELLA, J.; PASTORINI, L.H. Influência alelopática de *Phytolacca dioica* L. na germinação e crescimento inicial de tomate e picão-preto. **Rev Biot**, v.22, n.3, p.67-75, 2009. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782012000100014>

BOSCARDIN, P.M.D. **Avaliação anti-inflamatória e citotóxica do óleo essencial de *Eucalyptus benthamii* maiden et camage**. Tese – Doutorado em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

BOYCE, P.C.; CROAT, T.B. **The Überlist of Araceae, totals for published and estimated number of species in aroid genera**. 2016. Disponível em: <http://www.aroid.org/genera/160330uberlist.pdf>. Acesso em: 16 abr. 2016.

BRACHT, A. Enzimas. In: BRACHT, A.; ISHII-IWAMOTO, E.L. **Métodos de Laboratório em Bioquímica**. v.1, Maringá: Manole, p.103-137, 2003.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT – Food Sci Technol**, v.28, p.25-30, 1995. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).

BRANDELLI, C.L.C. **Plantas Medicinais: histórico e conceitos** – In: MONTEIRO, S.C.; BRANDELLI, C.L.C. Farmacobotânica Aspectos Teóricos e Aplicação. Artmed Editora, 172 p, 2017.

BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília: Mapa/ACS, p.398, 2009.

BUKOWSKA, B.; KOWALSKA, S. Phenol and catechol induce pre-hemolytic and hemolytic changes in human erythrocytes. **Toxicology Letters**, v.152, p.73-84, 2004.

BURGESS, I.F. The mode of action of dimeticone 4% lotion against head lice, *Pediculus capitis*. **BMC Pharmacology**, v.9, p.1-8, 2009.
<https://doi.org/10.1186/1471-2210-9-3>

BUTURI, C.V.; TEMPONI, L.G.; SAKURAGUI, C.M. A new species of *Philodendron* Schott (Araceae) in Paraná, Brazil. **Phytotaxa**, n.174, p.144-148, 2014.
<http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.174.3.2>.

BUTURI, C.V.; TEMPONI, L.G.; SAKURAGUI, C.M. O gênero *Philodendron* Schott (Araceae) no estado do Paraná. **Rodriguésia**, n.67, v.3, p.795-814, 2016.
<http://dx.doi.org/10.1590/2175-7860201667318>.

CAGLIONI, E.; BONNET, A.; SCHMITT, J.L.; CRISTOFOLINI, C.; ANDRADE, S.; CADORIN, T.J.; OLIVEIRA, C.P.L.; GROSCH, B.; GASPER, A.L.; UHLMANN, A.; SEVEGNANI, L.; VIBRANS, A.C. Epífitos vasculares predominantes em zonas ecológicas de forófitos, Santa Catarina, Brasil. **Rev Estud Amb**, v.14, n.1, p.28-42, 2012. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/937602>. Acesso em: 02 jan. 2015.

CALAZANS, L.S.B; SAKURAGUI, C.M. A new species of *Philodendron* (Araceae) and a key to Brazilian Atlantic Forest species of *P. subgenus Pteromischum*. **Phytotaxa**, v.94, n.2, p.49, 2013. <http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.94.2.3>

CALAZANS, L.S.B; ANTAS, N.G.; SAKURAGUI, C.M. *Philodendron luisae* (Araceae), a new species from Rio de Janeiro State, Brazil. **Bot Stud**, v.56, n.1, p.2-6, 2015. <https://doi.org/10.1186/s40529-015-0082-x>

CALIXTO JÚNIOR, J.T.; MORAIS, S.M.; MARTINS, C.G.; VIEIRA, L.G.; MORAIS-BRAGA, M.F.B.; CARNEIRO, J.N.P.; MACHADO, A.J.P.; MENEZES, I.R.A.; TINTINO, S.R.; COUTINHO, H.D.M. Phytochemical analysis and modulation of antibiotic activity by *Luehea paniculata* Mart. & Zucc. (Malvaceae) in multiresistant clinical isolates of *Candida Spp*. **Bio Med Res Int**, 10 pag, 2015.
<http://dx.doi.org/10.1155/2015/807670>

CAMPOS, A.D.; FERREIRA, A.G.; HAMPE, M.M.V.; ANTUNES, I.F.; BRANCÃO, N.; SILVEIRA, E.P.; OSÓRIO, V.A.; AUGUSTIN, E. Atividade de peroxidase e polifenoloxidase na resistência do feijão à antracnose. **Pesq Agropec Bras**, v.19, p.637-643, 2004. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2004000700004>

CÂNDIDO, A.C.S.; SCHMIDT, V.; LAURA, V.A.; FACCENDA, O.; HESS, S.C.; SIMIONATTO, E.; PERES, M.T.L.P. Potencial alelopático da parte aérea de *Senna occidentalis* (L.) Link (Fabaceae, Caesalpinioideae): bioensaios em laboratório. **Acta Bot Bras**, v.24, p.235-242, 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-33062010000100025>.

CARMICHAEL, J.; DEGRAFF, W.G.; GAZDAR, A.F.; MINNA, J.D.; MITCHELL, J.B. Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing. **Cancer Res**, v.47, n.4, p.936-942, 1987.

CARMO, F.M.S.; BORGES, E.E.L.; TAKAKI, M. Alelopatia de extratos aquosos de canela-sassafrás (*Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer). **Acta Bot Bras**, v.21, p.697-705, 2007. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-33062007000300016>

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 3. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1988. 424 p.

CARVALHO, J.L.S. **Contribuição ao estudo fitoquímico e analítico do *Nasturtium officinale* R. BR., BRASSICACEAE**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêutica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2001.

CARVALHO, J.L.S.; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G.; DADALT, R.C. 2006, **Brasil. Patente: Modelo Industrial**. Processo de obtenção de extratos hidroalcoólico, extratos secos e derivados do agrião (*Nasturtium officinale*) e espécies medicinais afins, com modificações introduzidas em equipamento Soxhlet para aplicações na indústria, área farmacêutica, cosmética, alimentícia e afins". Número do registro: PI 0601703-7A, data de depósito: 05/04/2006.

CASTELLAR, A.; OLIVEIRA, D.R.; LEITÃO, S.G.; BIZZO, H.R.; SOARES, M.L.C.; KINUPP, V.F.; VEIGA-JUNIOR, V.F. Essential oil from *Philodendron fragrantissimum*, an aromatic Araceae from Amazonia, Brazil. **J Essent Oil Res**, v.25, iss.3, 2013. <http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2012.751557>.

CATE-ARACEAE. 2016. **Creating a Taxonomic e-Science**. Disponível em <http://araceae.e-monocot.org/taxonomy/term/141>. Acesso em: 20 dez. 2016

CEAP—design, 2016. Centro de estudos ambientais e paisagísticos. **Pesquisa botânica e prática profissional**. Inhaúma – MG. Disponível em <http://www.ceapdesign.com.br/index.html> . Acesso em: 20 dez. 2016.

CECCHI, H. M. **Fundamentos Teóricos e Práticos em Análise de Alimentos**. 2.ed. Campinas: Editora UNICAMP, 207p., 2003.

CHAIRIYAH, N.; HARIJATI, N.; MASTUTI, R. Variation of calcium oxalate (CaOx) crystals in porang corms (*Amorphophallus muelleri* Blume) at different harvest time. **Am J Plant Sci**, v.7, p.306-315, 2016. <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2016.72030>

CHANG, C.C.; YANG, M.H.; WEN, H.M.; CHERN, J.C. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. **J Food Drug Anal**, v.10, p.178-182, 2002.

CHEW, Y.L.; CHAN, E.W.L.; TAN, P.L.; LIM, Y.Y.; STANSLAS, J.; GOH, J.K. Assessment of phytochemical content, polyphenolic composition, antioxidant and antibacterial activities of Leguminosae medicinal plants in Peninsular Malaysia. **BMC Complement Altern Med**, v.11, n.12, 10p, 2011.

CHKHIKVISHVILI, I.; SANIKIDZE, T.; GOGIA, N.; MCHEDLISHVILI, T.; ENUKIDZE, M.; MACHAVARIANI, M.; VINOKUR, Y.; RODOV, V. Rosmarinic acid-rich extracts of summer savory (*Satureja hortensis* L.) protect Jurkat T Cells against oxidative stress. **Oxid Med Cell Longev**, 9 p., 2013. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/456253>.

CHUNG, I.M.; AHN, L.K.; YUN, S.J. Assesment of allelopathic potential of barnyard grass (*Echinochloa crus-gall*) on rice (*Oriza sativa* L.) cultivars. **Crop Protec**, v.20, p.921-928, 2001.

COELHO, M.A.N. *Philodendron* Schott (Araceae): morfologia e taxonomia das espécies da Reserva Ecológica de Macaé de Cima - Nova Friburgo, Rio de Janeiro, Brasil. **Rodriguésia**, v.51, p.21-68, 2000. <http://dx.doi.org/10.1590/2175-7860200051787902>

COELHO, M.A.N. Espécies novas de *Anthurium* e *Philodendron* (Araceae) do sudeste brasileiro. **Bol Mus Biol Mello Leitão**, v.28, p.21-40, 2010a.

COELHO, M.A.N. A família Araceae na Reserva Natural Vale, Linhares, Espírito Santo, Brasil. **Bol Mus Biol Mello Leitão**, v.28, p.41-87, 2010b.

COELHO, M.A.N.; MAYO, S.J. Cinco Espécies Novas do Gênero *Philodendron* Schott (Araceae) para o Brasil. **Bol Bot Univ São Paulo**, Brasil, v.17, p.47-60, 1998. <http://dx.doi.org/10.11606/issn.2316-9052.v17i0p47-60>

COELHO, M.A.N.; SOARES, M.L.; CALAZANS, L.S.B.; GONÇALVES, E.G.; ANDRADE, I.M.; PONTES, T.A.; SAKURAGUI, C.M.; TEMPONI, L.G.; BUTURI, C.; MAYO, S. **Araceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (2016). Disponível em: (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB5015>). Acesso em: 12 jun. 2016.

COSTA, R.S.; OZELA, E.F.; BARBOSA, W.L.R.; PEREIRA, N.L.; SILVA JÚNIOR, J.O.C. Caracterização física, química e físico-química do extrato seco por nebulização (*spray-drying*) de *Cynara scolymus* L. (Asteraceae). **Rev Bras Farm**, v.90, n.3, p.169-174, 2009.

CRISMAN, H.A., STEINKAMP, J.A. Rapid simultaneous measurement of DNA, protein and cell volume in single cells from large mammalian cell populations. **J Cell Biol**, v.59, p.766, 1973.

CRUZ-ORTEGA, R.; ANAYA, A.L.; HERNÁNDEZ-BAUTISTA, B.E.; LAGUNA-HERNÁNDEZ, G. Effects of allelochemical stress produced by *Sicyos deppei* on seedling root ultrastructure of *Phaseolus vulgaris* and *Cucurbita ficifolia*. **J Chem Ecol**, v.24, n.12, p.2039-2057, 1998. <https://doi.org/10.1023/A:1020733625727>

DECKER, E.A. Strategies for manipulating the prooxidative/antioxidative balance of food to maximize oxidative stability. **Trends Food Sci Technol**, v.9, n.6, p.241-248, 1998.

DENIZOT, F.; LANG, R. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. **J Immunol Methods**, v.89, n.2, p.271-277, 1986.
[http://dx.doi.org/10.1016/0022-1759\(86\)90368-6](http://dx.doi.org/10.1016/0022-1759(86)90368-6)

DHANANI, T.; SHAH, S.; GAJBHIYE, N.A.; KUMAR, S. Effect of extraction methods on yield, phytochemical constituents and antioxidant activity of *Withania somnifera*. **Arab J Chem**, v.10, p.1193–1199, 2017.
<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.02.015>

DIAZ, I.E.C.; GONÇALVES, E.G.; MARQUES, M.O.M.; YOSHIDA, M. Incidencia de ácidos grasos en especies de Araceas. **Rev Soc Quím Perú**, v.77, n.4, p.275 – 284, 2011.

DING, L.; HOU, Q.; ZHOU, Q.; ZHANG, Q.; HOU, T.; LIU, G. Structure–activity relationships of eight ent-kaurene diterpenoids from three *Isodon* plants. **Res Chem Intermed**, v.36, p.443–452, 2010. <http://dx.doi.org/10.1007/s11164-010-0144-3>.

DISLICH, R.; MANTOVANI, W. A flora de epífitas das reservas vasculares da cidade universitária “Armando de Salles Oliveira”. **Bol Bot Univ São Paulo**, v.17, p.61-88, jun. 1998. <http://dx.doi.org/10.11606/issn.2316-9052.v17i0p61-83>

DO, Q.D.; ANGKAWIJAYA, A.E.; TRAN-NGUYEN, P.L.; HUYNH, L.H.; SOETAREDJO, F.E.; ISMADJI, S.; JU, Y. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromática*. **J Food Drug Anal**, v.22, p.296-302, 2014.
<https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001>

DÖTTERL, S.; DAVID, A.; BOLAND, W.; SILBERBAUER-GOTTSBERGER, I.; GOTTSBERGER, G. Evidence for behavioral attractiveness of methoxylated aromatics in a dynastid scarab beetle-pollinated Araceae. **J Chem Ecol**, v.38, p.1539 -1543, 2012. <https://doi.org/10.1007/s10886-012-0210-y>

DUANGMAL, K.; APENTEN, R.K.O. A comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia esculenta*) and potato (*Solanun tuberosum* var. romano). **Food Chem**, v.64, p.351-359, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00127-7](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00127-7)

DUKE, S.O.; OLIVA, A. **Mode of Action of Phytotoxic Terpenoids**. In: MACIAS, F.A.; GALINDO, J.C.G.; MOLINILLO, J.M.G. Allelopathy: chemistry and mode of action of allelochemicals. Taylor & Francis e-Library, 374p, 2005.

EINHELLIG, F.A. Mechanism of action of allelochemicals in allelopathy. **Allelopathy**, december 9, p.96-116, 1994. <https://doi.org/10.1021/bk-1995-0582.ch007>

EINHELLIG, F.A.; LEATHER, G.R. Potentials for exploiting allelopathy to enhance crop production. **J Chem Ecol**, v.14, n.10, 1829-1844, 1998.
<https://doi.org/10.1007/BF01013480>

EINHELLIG, F.A. **Mode of Allelochemical Action of Phenolic Compounds**. In: MACIAS, F.A.; GALINDO, J.C.G.; MOLINILLO, J.M.G. (Eds.). Allelopathy: chemistry and mode of action of allelochemicals. Taylor & Francis e-Library, 392p, 2005.

EL-DEEB, A.EL-S.; ABDEL-ALEEM, I.M.; ELAMIN, S.M.; REFAHY, L.A.; EL-SHAZLY, M.A. Antiproliferative effect of phenolic glucosides isolated from *Philodendron bipinnatifidum* on HepG2 cells. **Phytopharmacology**, v.3, n.2, p.351-358, 2012.

EL-GAWAD, A.M.A. Chemical constituents, antioxidant and potential allelopathic effect of the essential oil from the aerial parts of *Cullen plicata*. **Ind Crop Prod**, v.80, p.36–41, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.10.054>

EL-SEEDI, H.R.; BOHLIN, L.; GHIA, F.; TORSSELL, K.B.G. Ecologically active 2-octanoylcyclohexane-1,3-dione from *Philodendron guttiferum*. **J Chem Ecol**, v.27, iss:3, p.517-521, 2001. <https://doi.org/10.1023/A:1010349224578>

ELAKOVICH, S.D. **Biossays applied to allelopathic herbaceous vascular hydrophytes**. In: INDERJIT; DAKSHINI, K.M.M.; FOY, C.L. (Eds.) Principles and practices in plant ecology. Boca Raton, CRC Press, p.45-56, 1999.

ELLSE, L.; WALL, R. The use of essential oils in veterinary ectoparasite control: a review. **Med Vet Entomol**, v.28, p.233–243, 2014. <http://dx.doi.org/10.1111/mve.12033>.

ESCUADERO, A.; ALBERT, M.J.; PITA, J.M.; PEREZ-GARCIA, F. Inhibitory effects of *Artemisia herba-alba* on the germination of the gypsophyte *Helianthemum squamatum*. **Plant Ecol**, v.148, p.71-80, 2000. <http://doi.org/10.1023/A%3A1009848215019>

ESTEVEZ, Y.; CASTILLO, D.; PISANGO, M.T.; AREVALO, J.; ROJAS, R.; ALBAN, J.; DEHARO, E.; BOURDY, G.; SAUVAIN, M. Evaluation of the leishmanicidal activity of plants used by *Peruvian Chayahuira* ethnic group. **J Ethnopharmacol**, v.114, Issue 2, p.254-259, 2007. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2007.08.007>

FARIA, E.A.; LELES, M.I.G.; IONASHIRO, M.; ZUPPA, T.O.; ANTONIOSI FILHO, N.R. Estudo da estabilidade térmica de óleos e gorduras vegetais por TG/DTG e DTA. **Eclet Quím**, v.27, 2002. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-46702002000100010>.

FARKAS, J., MOHÁCSI-FARKAS, C. **Safety of foods and beverages: spices and seasonings**. In: MOTAJERMI, Y. Food Safety Assurance. Encyclopedia of Food Safety. 1° Ed., v.3, p.324-330, 2014.

FEITOSA, C.M.; BEZERRA, M.Z.B. Constituintes químicos de *Philodendron imbe* Schott. **Quim Nova** [online], v.30, n.1, p.41-44, 2007. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422007000100009>

FELICIANO, A.S.; PÉREZ, A.L.; ABAB, A.; SANTIAGO, C.; OLMO, E. In: YUNES, R.A.; CECHINEL FILHO, V. **Química de Produtos Naturais: novos fármacos e a moderna farmacognosia**. 5 Ed. Itajaí, SC: Univali, 2016.

FENNER, R.; BETTI, A.H.; MENTZ, L.A; RATES, S.M.K. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. **Rev Bras Ciênc Farm**, v.42, n.3, p.369-394, 2006. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-93322006000300007>

FERREIRA, A.G.; AQUILA, M.E.A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Braz J Plant Physiol**, v.12, Edição Especial, p.175-204, 2000.

FERREIRA, I.C.F.R.; ABREU, R.M.V. Stress Oxidativo, Antioxidantes e Fitoquímicos. **Bioanálise**, n.2, p.32-39, 2007.

FERREIRA, L.R.; TAVARES-MARTINS, A.C. Química e etnofarmacologia de plantas místicas em uma comunidade amazônica. **Rev Fitos**, v.10, n.3, p.307-328, 2016. <http://dx.doi.org/10.5935/2446-4775.20160024>.

FISCHER, N.H.; WILLIAMSON, G.; WEIDENHAMER, J.D.; RICHARDSON, D.R. In search of allelopathy in the Florida scrub: the role of terpenoids. **J Chem Ecol**, v.20, n.6, p.1355-1380, 1994.

FOSTER, A.S. **Practical Plant Anatomy**. 2.ed. Princeton: D. Van Nostrand, 1949, 218p.

FRANCESCHI, V.R.; HORNER, H.T. Calcium oxalate crystals in plants. **Bot Rev**, v.46, n.4, p.361-427, 1980. <https://doi.org/10.1007/BF02860532>

FRANCESCHI, V.R.; NAKATA, P.A. Calcium Oxalate in Plant: Formation and Function. **Annu Ver Plant Biol**, v.56, p.41-71, 2005. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.arplant.56.032604.144106>

FRAUSIN, G.; LIMA, R.B.S.; HIDALGO, A.F.; MING, L.C.; POHLIT, A.M. Plants of the Araceae family for malaria and related diseases: a review. **Rev Bras Pl Med**, Campinas, v.17, n.4, p.657-666, 2015. http://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/14_024

FUCHS, C.H. Fuchsin staining with naoh clearing for lignified elements of whole plants or plants organs. **Stain Technol**, v.38, p.141-144, 1963. <https://doi.org/10.3109/10520296309067156>

FUKAZAWA, J.; SAKAI, T.; ISHIDA, S.; YAMAGUCHI, I.; KAMIYA, Y.; TAKAHASHIA, Y. Repression of shoot growth, a bZIP transcriptional activator, regulates cell elongation by controlling the level of gibberellins. **The Plant Cell**, v.12, p.901–915, 2000. <https://doi.org/10.1105/tpc.12.6.901>

GARG, D.; SHAIKH, A.; MULEY, A.; MARAR, T. *In vitro* antioxidant activity and phytochemical analysis in extracts of *Hibiscus rosa-sinensis* stem and leaves. **Free Rad Antiox**, v.2, n.3, p.41-46, 2012. <https://doi.org/10.5530/ax.2012.3.6>

GHAREEB, M.A.; REFAHY, L.A.; SAAD, A.M.; EL-SHAZELY, M.A.; MOHAMED, A.S.; OSMAN, N.S. Cytotoxic screening of three egyptian plants using brine shrimp lethality test. **Int J Pharm Pharm Sci**, v.7, iss:9, p.507-509, 2015.

GENOVESE, A.G.; MCLEAN, M.K.; KHAN, S.A. Adverse reactions from essential oil-containing natural flea products exempted from Environmental Protection Agency regulations in dogs and cats. **J Vet Emerg Crit Care** (San Antonio), v.22, p.470–475, 2012. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1476-4431.2012.00780.x>

GENUA, J.M.; HILLSON, C.J. The occurrence, type and location of calcium oxalate crystals in the leaves of fourteen species of Araceae. **Ann Bot**, v.56, n.3, p.351–361, 1985. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a087021>

GIOVANNINI, P.; HOWES, M.R. Medicinal plants used to treat snakebite in Central America: Review and assessment of scientific evidence. **J Ethnopharmacol**, v.199, p.240-256, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.02.011>

GONÇALVES E.G. *Philodendron bernardopazii* and *Philodendron ricardoi* spp. nov. (Araceae) from Espírito Santo State, Brazil. **Nord J Bot**, v.29, p.385-390, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.2011.01103.x>

GONÇALVES E.G, ARRUDA, A.J. *Philodendron carajasense* sp. nov. (Araceae), a rheophyte from Carajás Mountain Range, northern Brasil. **Nord J Bot**, v.32, p.536–539, 2014. <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.2013.00171.x>

GONÇALVES-SOUZA, P.; GONÇALVES, E.G.; PAIVA, E.A.S. Extrafloral nectaries in *Philodendron* (Araceae): distribution and structure. **Bot J Linn Soc**, v.180, p.229–240, 2016. <https://doi.org/10.1111/boj.12366>

GONÇALVES-SOUZA, P.; SCHLINDWEIN, C.; DÖTTERL, S.; PAIVA, E.A. Unveiling the osmophores of *Philodendron adamantinum* (Araceae) as a means to understanding interactions with pollinators. **Ann Bot**, v.119, p.533-543, 2017. <https://doi.org/10.1093/aob/mcw236>

GOTTSBERGER, G.; SILBERBAUER-GOTTSBERGER, I.; SEYMOUR, R.S.; DÖTTERL, S. Pollination and floral scent differentiation in species of the *Philodendron bipinnatifidum* complex (Araceae). **Plant Syst Evol**, v.299, p.793–809, 2013. <https://doi.org/10.1007/s00606-013-0763-4>

GRAYUM, M.H. Evolution and Phylogeny of the Araceae. **Annals of the Missouri Bot Garden**, v.77, p.628-697, 1990.

GUSMAN, G.S.; YAMAGUSHI, M.Q.; VESTENA, S. Potencial alelopático de extratos aquosos de *Bidens pilosa* L., *Cyperus rotundus* L. e *Euphorbia heterophylla* L. **Iheringia Sér Bot**, Porto Alegre, v.66, n.1, p.87-98, 2011.

HASSANEIN, H.I.; EL-AHWANY, E.G.; SALAH, F.M.; HAMMAM, O.A.; REFAI, L.; HAMED, M. Extracts of five medicinal herbs induced cytotoxicity in both hepatoma and myeloma cell lines. **J Cancer Sci Ther**, v.3, n.10, p.239-243, 2011. <https://doi.org/10.4172/1948-5956.1000097>

HE, H.; BLEBY, T.M.; VENEKLAAS, E.J.; LAMBERS, H.; KUO, J. Morphologies and elemental compositions of calcium crystals in phyllodes and branchlets of *Acacia robeorum* (Leguminosae: Mimosoideae). **Ann Bot**, p.1-10, 2012. <https://doi.org/10.1093/aob/mcs004>

HENRIQUES, T.A.; DANIELLI, L.J.; APEL, M.A. In: YUNES, R.A.; CECHINEL FILHO, V. **Química de Produtos Naturais: novos fármacos e a moderna farmacognosia**. 5 Ed. Itajaí, SC: Univali, 2016.

HOLETZ, F.B.; PESSINI, G L.; SANCHES, N.R.; CORTEZ, D.A.G.; NAKAMURA, C.V.; DIAS FILHO, B.P. Screening of Some Plants Used in the Brazilian Folk Medicine for the Treatment of Infectious Diseases. **Mem Inst Osw Cruz**, v.97, n.7, p.1027-1031, 2002. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762002000700017>

HOFFMANN, C.E.F.; NEVES, L.A.S.; BASTOS, C.F.; WALLAU, G.L. Atividade alelopática de *Nerium oleander* L. e *Dieffenbachia picta* Schott em sementes de *Lactuca Sativa* L. e *Bidens pilosa* L. **Rev de Ciênc Agrovet**, v.6, n.1, p.11-21, 2007.

IBRAHIM, M.; KAINULAINEN, P.; AFLATUNI, A.; TIILIKKALA, K.; HOLOPAINEN, J.K. Insecticidal, repellent, antimicrobial activity and phytotoxicity of essential oils: with special reference to limonene and its suitability for control of insect pests. **Agri Food Sci Finl**, v.10, p.243–259, 2001. <https://doi.org/10.23986/afsci.5697>

IRUME, M.V.; SOARES, M.L.; MAYO, S.J.; CARVALHO, R.B.; ZARTMAN, C.E. *Philodendron melloi* (Araceae), a new species from central Amazonia, Brazil **Phytotaxa**, v.319, n.2, p.184–190, 2017. <http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.319.2.7>

JACOBSEN, J.V.; HANSON, A.D.; CHANDLER, P.C. Water stress enhances expression of an alpha-amylase gene in barley leaves. **Plant Physiol**, v.80, p.350-359, 1986. <http://dx.doi.org/10.1104/pp.80.2.350>

JIMÉNEZ, J.S.; VALERO, A.F.; MESEQUER, I.O.; GONZÁLEZ, L.C. Efecto insecticida del extracto de *Furcraea hexapetala* (Jacq.) Urban sobre *Plutella xylostella* L. **Cent Agr**, v.43, n.1, p.85-90; 2016.

JOHANSEN, D.A. **Plant Microtechnique**. New York: McGraw-Hill Book Company, p. 41-193, 1940.

JOFFARD, N.; LEGENDRE, L.; GIBERNAU, M.; PASCAL, L. Differential accumulation of Volatile Organic Compounds (VOCs) by leaves and roots of two Guianese *Philodendron* species, *P. fragrantissimum* Kunth and *P. melinonii* Brongn. **Chem Biodivers**, v.14, 2017. <http://dx.doi.org/10.1002/cbdv.201600415>.

KALEMBA, D.; KUNICKA, A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. **Cur Med Chem**, v.10, p.813-829, 2003. <http://dx.doi.org/10.2174/0929867033457719>

KAUR, I.P.; GEETHA, T. Screening methods for antioxidants-A Review. **Mini Rev Med Chem**, v.6, p.305-312, 2006. <https://doi.org/10.2174/138955706776073448>

KEATING, R.C. "Leaf anatomical characters and their value in understanding morphoclines in the Araceae. **Bot Rev**, v.68, n.4, p.510-523, 2002. [https://doi.org/10.1663/0006-8101\(2002\)068\[0510:LACATV\]2.0.CO](https://doi.org/10.1663/0006-8101(2002)068[0510:LACATV]2.0.CO)

KELLY, M.R.; XU, J.; ALEXANDER, K.E.; LOO, G. Disparate effects of similar phenolic phytochemicals as inhibitors of oxidative damage to cellular DNA. **Mutation Res**, v.485, p.309-318, 2001. DOI: 10.1016/S0921- 8777(01)00066-0

KERROLA, K.; GALAMBOSI, B.; KALLIO, H. Volatile components and odor intensity of four phenotypes of hyssop (*Hyssopus officinales* L). **J Agric Food Chem**, v.42, p.776-781, 1994. <https://dx.doi.org/10.1021/jf00039a035>

KHADEM, S.; MARLES, R.J. Monocyclic Phenolic Acids; Hydroxy- and Polyhydroxybenzoic Acids: Occurrence and Recent Bioactivity Studies. **Molecules**, v.15, p.7985-8005; 2010. <https://doi.org/10.3390/molecules15117985>

KIRKBY, E.A.; RÖMHELD, V. Micronutrientes na fisiologia de plantas: funções, absorção e mobilidade. **Encart Inf Agr**, n.118, junho, p.1-24, 2007.

KISHI, K.; YOSHIKAWA, K.; ARIHARA, S. Limonoids and protolimonoids from the fruits of *Phyllodendron amurense*. **Phytochemistry**, v.31, p.1335-1338, 1992.

KITAOKA, N.; LU, X.; YANG, B.; PETERS, R.J. The Application of Synthetic Biology to Elucidation of Plant Mono-, Sesqui-, and Diterpenoid Metabolism. **Mol Plant**, v.8, n.1, p.6-16, 2015. <https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.molp.2014.12.002>

KLIMKO, M.; WAWRZYNSKA, M.; WILAND-SZYMANSKA, J. Comparative leaf morphology and anatomy of some neotropical *Philodendron* Schott (Araceae) species. **Steciana**, v.18, n.3, p.159–171, 2014. <https://doi.org/10.12657/steciana.018.016>

KLIMKO, M.; WAWRZYNSKA, M.; WILAND-SZYMANSKA, J. Calcium oxalate crystals in some *Philodendron* Schott (Araceae) species. **Steciana**, v.20, n.3, p.103–116, 2016. <https://doi.org/10.12657/steciana.020.013>

KNIGHT, T.E. *Philodendron*-induced dermatitis: report of cases and review of the literature. **Cutis**, v.48, n.5, p.375-378, 1991.

KNIGHT, T.E.; BOLL, P.; EPSTEIN, W.L.; PRASAD, A.K. Resorcinols and catechols: A clinical study of cross-sensitivity. **Am J Contact Dermat**, v.7, p.138-145, 1996. [https://doi.org/10.1016/S1046-199X\(96\)90001-9](https://doi.org/10.1016/S1046-199X(96)90001-9)

KONYAR, S.T.; ÖZTÜRK, N.; DANE, F. Occurrence, types and distribution of calcium oxalate crystals in leaves and stems of some species of poisonous plants. **Bot Stud**, v.55, n.32, p.1-9, 2014. <https://dx.doi.org/10.1186%2F1999-3110-55-32>

KRISHAN, A. Rapid flow cytofluorometric analysis of cell cycle by propidium iodide staining. **J Cell Biol**, v.66, p.188, 1975.

LABORIAU, L.G. **A Germinação das Sementes**. Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, Washington, 1983, 170p.

LAGO, J.H.G.; TEZOTOA, J.; YAZBEKA, P.B.; CASSAS, F.; SANTOS, J.F.L.; RODRIGUES, E. Os exsudatos utilizados como remédios pelos "Habitantes do Rio Caboclos" do Rio Unini, AM, Brasil - classificação baseada em sua composição química. **Rev Bras Farmacog**, 2016, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2016.03.001>

LANFRANCHI, D.A.; BLANC, M.C.; VELLUTINI, M.; BRADESI, P.; CASANOVA, J.; TOMI, F. Enantiomeric differentiation of oxygenated *p*-menthane derivatives by ¹³C NMR using Yb(hfc)₃. **Magn Reson Chem**, v.46, p.1188–1194, 2008. <https://doi.org/10.1002/mrc.2330>

LANS, C.; TURNER, N.; KHAN, T. Medicinal plant treatments for fleas and ear problems of cats and dogs in British Columbia, Canada. **Parasitol Res**, v.103, p.889–898, 2008. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-008-1073-6>.

LAWRENCE, R.A. Poisonous Plants: When They Are a Threat to Children. **Pediatr Rev**, v.18, n.5, p.163-168, 1997. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811410-0.00062-3>

LEANDRO, L.M.; VEIGA JUNIOR, V.F. O gênero *Eperua* Aublet: UMA REVISÃO. **Sci Amazon**, v.1, n.2, p.14-22, 2012.

LEYVA, O.B.; VASALLO, C.V.M.; GONZÁLEZ, L.C.; CARBONELL, R.J. Extracto acuoso de *Euphorbia lactea* Haw como alternativa local para el control de *Plutella xylostella* L. en col. **Rev Ctro Agr**, v.44, n.1, p.49-55, 2017.

LOPEZ, M.L.; BONZANI, N.E.; ZYGADLO, J.A. Allelopathic potential of tagetes minuta terpenes by a chemical, anatomical and phytotoxic approach. **Biochem System Ecol**, v.36, p.882–890, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2008.11.003>

LUCCHESI, A.A.; OLIVEIRA, R.F. Efeito inibitório na germinação, induzido pelo extrato de couve (*Brassica oleracea* L. var. acephala DC.). **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, v.45, p.167-178, 1988.

MACHADO, E.K. **Estudo do efeito dos derivados de imidas cíclicas sobre os mecanismos de resistência tumoral e apoptose em células de linhagens tumorais**. 177p. Tese - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

MADSEN, M.T.; ANDERSEN, F.; PAULSEN, E. Concomitant immediate and delayed sensitization by *Philodendron* (*Philodendron scandens*) in a plant keeper **Contact Dermatitis**, v.77, p.326-328, 2017. <https://doi.org/10.1111/cod.12821>

MAGUIRE, J.D. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Sci**, v.2, n.2, p.176-177, 1962.
<http://dx.doi.org/10.2135/cropsci1962.0011183X000200020033x>

MAIA, A.C.D.; SCHLINDWEIN, C.; NAVARRO, D.M.A.F.; GIBERNAU, M. Pollination of *Philodendron acutatum* (Araceae) in the Atlantic Forest of northeastern Brazil: a single scarab beetle species guarantees high fruit set. **Int J Plant Sci**, v.171, p740–748, 2010. <https://doi.org/10.1086/654846>

MARASCHIN-SILVA, F.; AQUILA, M.E.A. Potencial alelopático de espécies nativas na germinação e crescimento inicial de *Lactuca sativa* L. (Asteraceae). **Acta Bot Bras**, v.20, p.61-69, 2006.

MARENCO, R.A.; LOPES, N.F. **Fisiologia Vegetal: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral**. UFV: Viçosa, Brasil, 451pp, 2005.

MARTINS, M.A.; GONÇALVES, P.S.; FERREIRA, M.; MATTOSO, L.H.C. Borracha natural brasileira: Caracterização térmica de clones IAC da série 400 da cidade de Mococa, São Paulo. **Anais do X Congresso Brasileiro de Polímeros**. Foz do Iguaçu, 2009.

MAYO, S.J.; BOGNER, J.; BOYCE, P.C. **The Genera of Araceae**. Kew: Royal Botanic Gardens, 1997, 370p.

MEHLHORN, H.; SCHMAHL, G.; SCHMIDT, J. Extract of the seeds of the plant *Vitex agnus castus* proven to be highly efficacious as a repellent against ticks, fleas, mosquitoes and biting flies. **Parasitol Res**, v.95, p.363–365, 2005.
<https://doi.org/10.1007/s00436-004-1297-z>

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends Plant Sci**, v.9, p.405-410, 2002. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02312-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02312-9)

MIYAKE, M.; INABA, N.; AYANO, S.; OZAKI, Y.; MAEDA, H.; IFUKU, Y.; HASEGAWA, S. Limonoids in *Phellodendron amurense* (Kihada). **Released**, v.30, p.343-347, 2008.

MORAIS, S.M.; CATUNDA-JUNIOR, F.E.A.; SILVA, A.R.A.; MARTINS-NETO, J.S.; RONDINA, D.; CARDOSO, J.H.L. Antioxidant activity of essential oils from Northeastern Brazilian *Croton* species. **Quim Nova**, v.29, n.5, p.907-910, 2006.
<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422006000500004>

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J Immunol**, v.65, p.55–63, 1983.
[http://dx.doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](http://dx.doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)

MOURA, V.M.; SOUSA, L.F.; OLIVEIRA, R.B.; SILVA, A.M.M.; CHALKIDIS, H.M.; SILVA, M.N.; PACHECO, S.; MOURÃO, R.H.V. Inhibition of the principal enzymatic and biological effects of the crude venom of *Bothrops atrox* by plant extracts. **J Med Plants Res**, v.7, n.31, p.2330-2337, 2013.
<http://dx.doi.org/10.5897/JMPR2013.5148>

MOURA, V.M.; SOUSA, L.F.; SANTOS, M.C.; RAPOSO, J.D.A.; LIMA, A.E.; OLIVEIRA, R.B.; SILVA, M.N.; MOURÃO, R.H.V. Plants used to treat snakebites in Santarém, western Pará, Brazil: An assessment of their effectiveness in inhibiting hemorrhagic activity induced by *Bothrops jararaca* venom. **J Ethnopharmacol**, v.161, p.224-232, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2014.12.020>.

MRVOS, R.; DEAN, B.S.; KRENZELOK, E.P. *Philodendron/Dieffenbachia* ingestions: are they a problem? **J Toxicol Clin Toxicol**. v.29, n.4, p.485-491, 1991. <https://doi.org/10.3109/15563659109025745>

MUELAS-SERRANO, S.; NOGAL, J.J.; MARTINEZ-DIAZ, R.A.; ESCARIO, J.A.; MARTINEZ-FERNANDEZ, A.R.; GOMEZ-BARRIO, A. *In vitro* screening of american plant extracts on *Trypanosoma cruzi* and *Trichomonas vaginalis*. **J Ethnopharmacol**, v.71, n.1, p.101-107, 2000. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(99\)00185-3](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(99)00185-3)

MUNNS, R.; TESTER, M. Mechanism of salinity tolerance. **Annu Rev Plant Biol.**, v.59, p.651-681, 2008. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092911>

MURPHY, G.P. Current Report on the Interferon Program at Roswell Park Memorial Institute. **J Surg Oncol**, v.17, p.99- 111, 1981. <https://doi.org/10.1002/jso.2930170203>

NAGAMINE, M.K. **Efeitos dos extratos etanólico, butanólico ou aquoso de *Pfaffia paniculata* sobre a proliferação de linhagens tumorais de células mamárias**. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

NAKANO, Y.; ASADA, K. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. **Piara Ce Cell Physiol**, v.22, n.5, p.867-880, 1981. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232>

NCCLS. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard**—Sixth Edition. NCCLS document M7-A6 [ISBN 1-56238-486-4]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.) Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicosauade/manuais/clsi/clsi_OPASM7_A6.pdf . Acessado em: 26 de janeiro de 2016.

NIERO, R.; MALHEIROS, A. In: YUNES, R.A.; CECHINEL FILHO, V. **Química de Produtos Naturais: novos fármacos e a moderna farmacognosia**. 5 Ed. Itajaí, SC: Univali, 2016.

O'BRIEN, T.P.; FEDER, N.; MCCULL, M.E., Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine-O. **Protoplasma**, v.59, p.364-373, 1964. <https://doi.org/10.1007/BF01248568>

OLIVEIRA, F.; AKISUE, G. **Fundamentos de Farmacobotânica**. Rio de Janeiro: Atheneu. 1989.

OLIVEIRA, R.B.; GODOY, S.A.P.; COSTA, F.B. **Plantas Tóxicas - conhecimento e prevenção de acidentes**. v.1. Ribeirão Preto: Holos Editora, 2003.

OLIVEIRA, V.M.A.; CARNEIRO, A.L.B.; CAUPER, G.S.B.; POHLIT, A.M. *In vitro* screening of Amazonian plants for hemolytic activity and inhibition of platelet aggregation in human blood. **Acta Amazon**, v.39, p.973 – 980, 2009.

OLIVEIRA, A.M.A.; SANTOS, V.L.P.; FRANCO, C.R.C.; FARAGO, P.V.; DUARTE, M.R.; BUDEL, J.M. Comparative morpho-anatomical study of *Baccharis curitybensis* Heering ex Malme and *Baccharis spicata* (Lam.) Baill. **Lat Am J Pharm**, v.30, p.1560-1566, 2011.

OLIVEIRA, C.F.; OLIVEIRA, F.F.; OLIVEIRA, V.B.; MIGUEL, O.G.; MIGUEL, M.D. Parâmetros de controle de qualidade de *Psychotria fractistipula* L.B. Sm., Klein & Delprete (Rubiaceae): umidade, cinzas e prospecção fitoquímica. **Vis Acad**, v.15, p.17-23, 2014. <http://dx.doi.org/10.5380/acd.v15i4.40032>

OLIVEIRA, V.B. **Estudo morfoanatômico, fitoquímico e biológico das frondes da espécie vegetal *Dicksonia sellowiana* (Presl.) Hook. (Dicksoniaceae)**. 2016. 171 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Paraná - UFPR, Curitiba, 2016.

OLIVEIRA, R.R.; PASIN, L.A.A.P. Ocorrência de oxalato de cálcio em diferentes espécies vegetais de uso ornamental. **Rev Ciênc Amb**, v.11, n.3, p.41-52, 2017. <http://dx.doi.org/10.18316/rca.v11i3.3571>

ONG, H.X.; TRAINI, D.; YOUNG, P.M. Pharmaceutical applications of the Calu-3 lung epithelia cell line. **Expert Opin Drug Deliv**, v.10, n.9, p.1287-1302, 2013. <https://doi.org/10.1517/17425247.2013.805743>

OTERO, R.; FONNEGRA, R.; JIMÉNEZ, S.L.; NUÑEZA, V.; EVANS, N.; ALZATE, S.P.; GARCÍA, M.E.; SALDARRIAGA, M.; DEL VALLE, G.; OSORIO, R.G.; DÍAZ, A.; VALDERRAMA, R.; DUQUE, A.; VELEZ, H.N. Snakebites and ethnobotany in the northwest region of Colombia Part I: Traditional use of plants. **J Ethnopharmacol**, v.71, p.493–504, 2000.

OTTOBELLI, I.; FACUNDO, V.A.; ZULIANI, J.; LUZ, C.C.; BRASIL, H.O.B.; MILITÃO, J.S.L.T.; BRAZ-FILHO, R. Estudo químico de duas plantas medicinais da Amazônia: *Philodendron scabrum* k. Krause (Araceae) e *Vatairea guianensis* aubl. (Fabaceae). **Acta Amazon**, v.41, n.3, p.393-400, 2011. <http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672011000300009>.

PÁDUA, G.P.; VIEIRA, R.D. Deterioração de sementes de algodão durante o armazenamento. **Rev Bras Sement**, v.23, n.2, p.255-262, 2001. <http://dx.doi.org/10.17801/0101-3122/rbs.v23n2p255-262>

PATEL, R.P.; BOERSMA, B.J.; CRAWFORD, J.H.; HOGG, N.; KIRK, M.; KALYANARAMAN, B.; PARKS, D.A.; BARNES, S.; DARLEY-USMAR, V. Antioxidant mechanisms of isoflavones in lipid systems: paradoxical effects of

peroxyl radical scavenging. **Free Rad Biol Med.**, v.31, n.12, p.1570-1581, 2001. [http://dx.doi.org/10.1016/S0891-5849\(01\)00737-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0891-5849(01)00737-7)

PAULA, C.S.; CANTELI, V.C.D.; HIROTA, B.C.K.; CAMPOS, R.; OLIVEIRA, V.B.; KALEGARI, M.; SILVA, C.B.; SILVA, G.M.; MIGUEL, O.G.; MIGUEL, M.D. Potencial antioxidante “*in vitro*” das folhas da *Bauhinia unguolata* L. **Rev Ciênc Farm Básica Apl**, v.35, n.2, p.217-222, 2014.

PAULA, C.S.; CANTELI, V.C.D.; SILVA, C.B.; MIGUEL, O.G.; MIGUEL, M.D. Estudo do potencial fitotóxico de extratos de *Bauhinia unguolata* L. sobre a divisão celular e atividade enzimática em plântulas de alface. **Rev Bras PI Med**, Campinas, v.17, n.4, p.577-584, 2015. http://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/13_079.

PEREIRA, R.J.; CARDOSO, M.G. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes vegetable secondary metabolites and antioxidants benefits. **J Biotechnol Biodiversi**, v.3, n.4: p.146-152, 2012.

PEREIRA, B.L.C.; CARNEIRO, A.C.O.; CARVALHO, A.M.M.L.; TRUGILHO, P.F.; MELO, I.C.N.A.; OLIVEIRA, A.C. Estudo da degradação térmica da madeira de *Eucalyptus* através de termogravimetria e calorimetria. **Rev Árvore**, v.37, n.3, p.567-576, 2013. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622013000300020>

PEREIRA, J.; SCHLINDWEIN, C.; ANTONINI, Y.; MAIA, A.C.D.; DÖTTERL, S.; MARTINS, C.; NAVARRO, D.M.D.A.F.; OLIVEIRA, R. *Philodendron adamantinum* (Araceae) lures its single cyclocephaline scarab pollinator with specific dominant floral scent volatiles. **Biol J Linn Soc**, v.111, p.679–691, 2014. <https://doi.org/10.1111/bij.12232>

PETERSEN, D.D. Common plant toxicology: A comparison of national and Southwest Ohio data trends on plant poisonings in the 21st century. **Toxicol Appl Pharmacol**, v.254, p.148-153, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2010.10.022>

PONCHET, M.; MARTIN-TANGUY, J.; MARAIS, A.; MARTIN, C. Hydroxycinnamoyl acid amides and aromatic amines in the inflorescences of some Araceae species. **Phytochemistry**, v.21, Issue:12, p.2865–2869, 1980. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(80\)85057-6](https://doi.org/10.1016/0031-9422(80)85057-6)

PONTES, T.A.; ALVES, M. Padrões de distribuição geográfica das espécies de Araceae ocorrentes em fragmentos de floresta atlântica em Pernambuco, Brasil. **Rev Bras Bioc**, v.9, n.4, p.444-454, 2011.

PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Anal Biochem**, v.269, p.337-341, 1999.

PRYCHID, C.J.; RUDALL, P.J. Calcium Oxalate Crystals in Monocotyledons: A Review of their Structure and Systematics. **Ann Bot**, v.8, p 725–739, 1999. <https://doi.org/10.1006/anbo.1999.0975>

PUTTER, J. Peroxidases. In BERGMEYER, H.U. **Methods of Enzymatic Analysis**. 2nd. Weinhan: Verlag Chemie, p.685-690, 1974.

RADFORD, A.E; DICKISON, W.C; MASSEY, J.R; BELL, C.R. **Vascular Plant Systematics**. Harper & Row Publishers, New York, 1974.

RAHMAN, M.M.; KAWAMURA, O. Oxalate accumulation in forage plants: some agronomic, climatic and genetic aspects. **Asian Aust J Anim Sci**, v.24, n.3, p.439–448, 2011. <https://doi.org/10.5713/ajas.2011.10208>

RASOOL, S., KHAN, F.Z., UL HASSAN, S., AHMED, M., AHMED, M., TAREEN, R.B. Anticonvulsant, antimicrobial and cytotoxic activities of *Berberis calliobotrys* Aitch ex Koehne (Berberidaceae). **Trop J Pharm Res**, v.14, n.11, p.2031-2039, 2015.

REFFSTRUP, T.; BOLL, P.M. Allergenic 5-alkyl- and 5-alkenylresorcinols from *Philodendron* species. **Phytochemistry**, v.24, iss.:11, p.2563 -2565, 1985. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)80668-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)80668-8)

REGINATTO, F.H. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.D.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p.387-415, 2000.

REIGOSA, M.J.; SÁNCHEZ-MOREIRAS, A.; GONZÁLEZ, L. Ecophysiological approach in allelopathy. **Crit Rev Plant Sci**, v.18, n.5, p.577-608, 1999.

REIS, S.L.; MANTELLO, A.G.; MACEDO, J.M.; GELFUSO, E.A.; SILVA, C.P.; FACHIN, A.L.; CARDOSO, A.M.; BELEBONI, R.O. Typical Monoterpenes as Insecticides and Repellents against Stored Grain Pests. **Molecules**, v.21, p.258-268, 2016. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules21030258>.

REIS, K.C.T.; GUIMARÃES, L.L.; TOMA, W. Avaliação fitoquímica do extrato etanólico obtido a partir das raízes de *Philodendron bipinnatifidum* Schott (Araceae). **Unisanta Health Sci**, v.1, n.1, p.98-102, 2017.

REZENDE, H.A.; COCCO, M.I.M. A utilização de fitoterapia no cotidiano de uma população rural. **Rev Esc Enferm**, v.36, n.3, p.282-288, 2002..

REZENDE, C.P.; PINTO, J.C.; EVANGELISTA, A.R.; SANTOS, E.I.P.A. Alelopatia e suas interações na formação e manejo de pastagens. **Bol Agr**, Universidade Federal de Lavras, MG. v.54, p.1-55, 2003.

RIBBLE, D.; GOLDSTEIN, N.B.; NORRIS, D.A.; SHELLMAN, Y.G. A simple technique for quantifying apoptosis in 96-well plates. **BMC biotechnol**, v.5, n.12, p.1-7, 2005. <https://doi.org/10.1186/1472-6750-5-12>

RICE, E.L. **Allelopathy**. 2.ed. Orlando: Academic, 422p., 1984.

RIEHL, P.S.; DEPORRE, Y.C.; ARMALY, A.M.; GROSO, E.J.; SCHINDLER, C.S. New avenues for the synthesis of ent-kaurene diterpenoids. **Tetrahedron**, v.71, p.6629-6650, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tet.2015.04.116>.

RIZVI, S.J.H.; RIZVI, H. **Allelopathy: Basic and applied aspects**. London, Chapman & Hall, p.1-10, 1992.

RIZZINI, C.T., OCCHIONI, P. Ação tóxica de *Dieffenbachia picta* e de *Dieffenbachia seguine*. **Rodriguésia**, v.32, n.5, p.1-27, 1957.

ROESER, K. R. Die Nadel der Schwarzkiefer-Massenprodukt und Kunstwerk der Natur. **Mikrokosmos**, v.61, p.33-36, 1972.

RONGAI, D.; PULCINI, P.; PESCE, B.; MILANO, F. Antifungal activity of some botanical extracts on *Fusarium oxysporum*. **Open Life Sci.** v.10, p.409–416, 2015. <https://doi.org/10.1515/biol-2015-0040>

RYAN, M.F.; BYRNE, O. Plant-insect coevolution and inhibition of acetylcholinesterase. **J Chem Ecol**, v.14, n.10, 1988. <http://dx.doi.org/10.1007/BF01013489>.

SAITO, S.R.M.; LIMA, V.F.G.A.P. Estudo anatômico e variação na concentração de idioblastos com ráfides em folhas de Araceae, mantidas sob diferentes condições de luminosidade. **Saúde**, v.3, n.2, p. 25-32, 2009.

SAKURAGUI, C.M. Biogeografia de *Philodendron* seção *Calostigma* (Schott) Pfeiffer (Araceae) no Brasil. **Acta Scient**, Maringá, v.23, n.2, p.561-569, 2001. <http://dx.doi.org/10.4025/actascibiols.v23i0.2714>

SAKURAGUI, C.M.; MAIO, S.J.; COELHO, M.A.N. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Araceae. **Bol Bot Univ São Paulo**, Brasil, v.25, p.8794, 2007. <http://dx.doi.org/10.11606/issn.2316-9052.v25i1p87-94>

SANTIAGO, J.A.; CARDOSO, M.G.; FIGUEIREDO, A.C.S.; MORAES, J.C.; ASSIS, F.A.; TEIXEIRA, M.L.; SANTIAGO, W.D.; SALES, T.A.; CAMARGO, K.C.; NELSON, D.L. Chemical characterization and application of the essential oils from *Chenopodium ambrosioides* and *Philodendron bipinnatifidum* in the control of *Diabrotica speciosa* (Coleoptera: Chrysomelidae). **Am J Plant Sci**, v.5, 2014. <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2014.526417>.

SANTOS, A.P.B. A Beleza, a Popularidade, a Toxicidade e a Importância Econômica de Espécies de Aráceas. **Rev Virtual Quim**, v.3, n.3, p.181-195, 2011. <http://dx.doi.org/10.5935/1984-6835.20110022>.

SASS, J. E. **Botanical Microtechnique**. Ames: Iowa State College Press, 1951, 391p.

SCANDALIOS, J.G. Oxygen stress and superoxide dismutase. **Plant Physiol**, v.101, p.7-12, 1993.

SCHMELZ, E.A.; HUFFAKER¹, A.; SIMS, J.W.; CHRISTENSEN, S.A.; LU, X.; OKADA, K.; PETERS, R.J. Biosynthesis, elicitation and roles of moncot terpenoid Phytoalexin. **Plant J**, v.79, p.659–678, 2014. <http://dx.doi.org/10.1111/tpj.12436>.

SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; ATHAYDE, M. L. Saponinas. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.D.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. Porto Alegre: 6. Ed. Editora UFRGS, 2007, 1104p.

SCHÜTZ-GATTI, A.L. **O componente epifítico vascular na Reserva Salto Morato, Guaraqueçaba, PR**. 2000. 93 f. Il. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal do Paraná - UFPR, Curitiba, 2000.

SEENIVASAGAN, T.; PAUL, A.V.N. Electroantennogram and flight orientation response of *Cotesia plutellae* to hexane extract of cruciferous host plants and larvae of *Plutella xylostella*. **Entomol Res**, v.41, p.7–17, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5967.2010.00310.x>

SFARA, V.; ZERBA, E.N.; ALZOGARAY, R.A. fumigant insecticidal activity and repellent effect of five essential oils and seven monoterpenes on first-instar nymphs of *Rhodnius prolixus*. **J Med Entomol**, v.46, n.3, p.511-515, 2009. <https://doi.org/10.1603/033.046.0315>.

SHAFIZADEH, F.; BRADBURY, G.W. Thermal Degradation of Cellulose in Air and Nitrogen at Low Temperatures. **J Appl Polym Sci**, v.23, p.1431-1442, 1979. <https://doi.org/10.1002/app.1979.070230513>

SILVA, F.A M.; BORGES, M.F.M.; FERREIRA, M.A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Quím Nova** [online]. v.22, n.1, p.94-103, 1999. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40421999000100016>.

SILVA, F. M. **Verificação da eficácia dos bioensaios com extratos aquosos no diagnóstico de potencial alelopático: contribuição ao estudo de espécies nativas brasileiras**. 2004. 142p. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Programa de Pós-graduação em Botânica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

SILVA, G.B.; MARTIM, L.; SILVA, C.L; YOUNG, M.C.M.; LADEIRA, A.M. Potencial alelopático de espécies arbóreas nativas do cerrado. **Hoehnea**, v.33, n.3, p.331-338, 2006.

SILVA, J.V.S.; ROSÁRIO, D.M.; VEIGA, A.S.S.; VASCONCELOS, F.; PERCÁRIO, S.; DOLABELA, M.F. Uma revisão bibliográfica sobre Araceae com foco nos gêneros *Pistia*, *Philodendron* e *Montrichardia*: aspectos botânicos, fitoquímicos e atividades biológicas. **Rev Fit Eletr**, v.8, n.2, p.79-93, 2013. DOI 10.5935/1808-9569.20130006

SILVA, C.B.; OLIVEIRA, M.; DIAS, J.F.; ZANIN, S.M.W.; SANTOS, G.O.; CÂNDIDO, A.C.S.; PERES, M.T.L.P.; SIMIONATTO, E.; MIGUEL, O.G.; MIGUEL, M.D. Atividade alelopática dos lixiviados de *Asemeia extraaxillaris* (Polygalaceae)

sobre o crescimento de *Ipomoea cordifolia*. **Rev Bras Pl Med**, Campinas, v.18, n.1, p.215-222, 2016. http://dx.doi.org/10.1590/1983-084X/14_093

SILVA, J.I.M.; SOUZA, M.C.S.; SOARES, M.L.C.; COSTA, R.C.; NUNEZ, C.V. Óleos essenciais das raízes das espécies de *Philodendron maximum*, *Philodendron solimoesense* e *Philodendron goeldii* (Araceae). **Rev Fitos**, Rio de Janeiro, v.10, n.1, p.77-86, 2016. <http://dx.doi.org/10.5935/2446-4775.20160008>

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.D.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. Porto Alegre: Editora da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p.387-415, 2000.

SLINKARD, K.; SINGLETON, V. L. Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. **Am J Enology Vitic**, v.28, n.1, p.49-55, 1977.

SOARES, A.M.S.; MACHADO, O.L.T. Defesa de plantas: Sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Rev Trop – Cienc Agrar Biol**, v.1, n.1, p.9, 2007.

SOARES, J.J. **Avaliação da atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo* de extratos preparados a partir das folhas de *Syzygium cumini* (L.) Skeels**. 2013. 82f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Universidade Federal do Pampa, Uruguaiana, 2013.

SOUZA, W. Técnicas básicas de microscopia eletrônica aplicadas às Ciências Biológicas. **Soc Bras Micr Eletr**, p.1-44, 1998.

SOUZA, L.S.; VELINI, E.D.; MAIOMONI-RODELLA, R.C.S. Efeito alelopático de plantas daninhas e concentrações de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*) no desenvolvimento inicial de eucalipto (*Eucalyptus grandis*). **Plant Dan**, v.21, p.343-354, 2003.

SOUZA, A. S. L. **Avaliação da estabilidade térmica e oxidativa de chocolates amargos**. 2010. 110f. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2010.

SOUZA, P.H.S. **Potencial de extratos da *Schinopsis brasiliensis* Engl. Para desenvolvimento de produtos odontológicos**. 2015. 137f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2015.

SOUZA-FILHO, A.P.S.; RODRIGUES, L.R.A.; RODRIGUES, T.J.D. Efeitos do potencial alelopático de três leguminosas sobre três invasoras de pastagens. **Pesq Agropec Bras**, Brasília, v.32, n.2, p.165-170, 1997.

SOUZA-FILHO, A.P.S.; GUILHON, G.M.S.P.; SANTOS, L.S. Metodologias empregadas em estudos de avaliação da atividade alelopática em condições de laboratório. **Rev Crít Plant Dan**, v.28, n.3, p.689-697, 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-83582010000300026>

STEPONKUS, P.L.; LANPHEAR, F.O. Refinement of the triphenyl tetrazolium chloride method of determining cold injury. **J Plant Physiol**, v.42, p.1423-1426, 1967.

STUART-WALKER, T. Antibacterial Agents. In Philadelphia, PA: **Microbiology**. W.B. Saunders Company, 1998, 80p.

SUFFNESS, M.; PEZZUTO, J. Assays related to cancer drug discovery. In: HOSTETTMANN, K. (ed.). **Methods in Plant Biochemistry: assays for bioactivity**. London: Academic Press. p.71-133, 1990.

SUFFREDINI, I.B.; PACIENCIA, M.L.B.; VARELLA, A.D.; YOUNES, R.N. *In vitro* cytotoxic activity of Brazilian plant extracts against human lung, colon and CNS solid cancers and leucemia. **Fitoterapia**, v.78, iss:3, p.223 -226, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2006.11.011>

SWIECH, J.N.D.; BOBEK, V.B.; FOLQUITTO, D.G.; SILVA, R.Z.; BUDEL, J.M.; FARAGO, P.V.; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G. Morpho-anatomy of the vegetative organs of *Philodendron meridionale* Buturi & Sakur. **Lat Am J Pharm**. v.10, p.2142–2148, 2016.

SYLVESTRE, M.; PICHETTE, A.; LONGTIN, A.; NAGAU, F.; LEGAULT, J. Essential oil analysis and anticancer activity of leaf essential oil of *Croton flavens* L. from Guadeloupe. **J Ethnopharmacol**, v.103, n.1, p.99–102, 2006. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2005.07.011>.

TENORIO, V.; SAKURAGUI, C.M.; VIEIRA, R.C. Stem anatomy of *Philodendron* Schott (Araceae) and its contribution to the systematics of the genus. **Plant Syst Evol**, v.298, p.1337-1347, 2012. <https://doi.org/10.1007/s00606-012-0640-6>

TENORIO, V.; SAKURAGUI, C.M.; VIEIRA, R.C. Structures and functions of adventitious roots in species of the genus *Philodendron* Schott (Araceae). **Flora**, v.209, Issue 10, p.547–555, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2014.08.001>

TOLOZA, A. C.; ZYGADLO, J.; CUETO, G. M.; BIURRUN, F.; ZERBA, E.; PICOLLO, M. I. Fumigant and repellent properties of essential oils and component compounds against permethrin-resistant *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae) from Argentina. **J Med Entomol**, v.43, n.5, p.889-895, 2006. [https://doi.org/10.1603/0022-2585\(2006\)43\[889:FARPOE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0022-2585(2006)43[889:FARPOE]2.0.CO;2)

TOLOZA, A.C.; ZERBA, E.; MASUH, H.; PICOLLO, M.I. Interspecific hybridization of *Eucalyptus* as a potential tool to improve the bioactivity of essential oils against permethrin-resistant head lice from Argentina. **Bioresour Technol**, v.99, p.7341–7347, 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2007.12.067>.

TOYOMASU, T.; SASSA, T. In MANDER, L., LIU, H.-W. **Diterpenes in Comprehensive Natural Products II**. Chemistry and Biology; Eds.; Newnes: v 1, 2010.

TORRES, A.L. **Efeitos de cultivares de repolho e extratos vegetais na biologia de *Plutella xylostella* (L.) e no parasitoide *Oomyzus sokolowskii* (Kurdjumov).** 2004. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2004.

TORRES, A.L.; BOIÇA JÚNIOR, A.L.; MEDEIROS, C.A.M.; BARROS, R. Efeito de extratos aquosos de *Azadirachta indica*, *Melia azedarach* e *Aspidosperma pyrifolium* no desenvolvimento e oviposição de *Plutella xylostella*. **Bragantia**, v.65, n.3, p.447-457, 2006. <http://dx.doi.org/10.1590/S0006-87052006000300011>

TREVISAN, M.T.S.; MACEDO, F.V.V. Seleção de plantas com atividade anticolinesterase para tratamento da Doença de Alzheimer. **Quim Nova**, v.26, n.3, p.301-304, 2003. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422003000300002>

TURNER, G.W.; CROTEAU, R. Organization of Monoterpene Biosynthesis in *Mentha* Immunocytochemical Localizations of Geranyl Diphosphate Synthase, Limonene-6-Hydroxylase, Isopiperitenol Dehydrogenase, and Pulegone Reductase. **Plant Physiology**, v.136, p.4215–4227, 2004.

VEIGA JUNIOR, V.F.; PINTO, A.C. O gênero *Copaifera* L. **Quim Nova**, v.25, n.2, p.273-286, 2002. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422002000200016>

VIANA, F.A.; ANDRADE-NETO, M; POULIQUEN, Y.B.M. Chemical composition of the essential oil from roots of *Philodendron acutatum* Schott. **J Essent Oil Res**, v.14, p.172–174, 2002. <https://doi.org/10.1080/10412905.2002.9699814>.

VIANNA, W. O.; SOARES, M. K. M.; APPEZZATO-DA-GLORIA, B. Anatomia da raiz escora de *Philodendron bipinnatifidum* Schott (Araceae). **Acta Bot Bras**, v.15, n.3, p.313-320, 2001. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-33062001000300003>

VIECELLI, C.A.; STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Indução de resistência em feijoeiro a mancha angular por extratos de micélio de *Pycnoporus sanguineus*. **Summa Phytopathol**, v.36, p.73-80, 2010.

VIEGAS JÚNIOR, C.; BOLZANI, V.S.; BARREIRO, E.J. Os produtos naturais e a química medicinal moderna. **Quim Nova**, v.29, n.2, p.326-337, 2006. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422006000200025>

VILLAS BÔAS, G.L.; CASTELO BRANCO, M.; MEDEIROS, M.A.; MONNERAT, R.G.; FRANÇA, F.H. Inseticidas para o controle da traça-das-crucíferas e impactos sobre a população natural de parasitoides. **Hortic Bras**, Brasília, v.22, n.4, p.696-699, out-dez 2004. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362004000400006>

VIRADOR, V.M.; KOBAYASHI, N.; MATSUNAGA, J.; HEARING, V.J. A standardized protocol for assessing regulators of pigmentation. **Anal Biochem**, v.270, p.207–219, 1998. <https://doi.org/10.1006/abio.1999.4090>.

WAECHTER, J.L. **O epifitismo vascular na planície costeira do Rio Grande do Sul.** 163 p. Tese (Doutorado em Ecologia) - Universidade Federal de São Carlos - UFSCar. São Carlos, 1992.

WAGNER, H.M.; BLADT, S.; ZGAINSKI, E.M. **Plant drug analysis**. New York: Springer-Verlag, 1984, 320p.

WEIR, T.L.; PARK, S.W.; VIVANCO, J.M. Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. **Curr Opin Plant Biol**, v.7, n.4, p.472–479, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2004.05.007>

WILLIAMS, C.A.; HARBORNE, J.B.; MAYO, S.I. Anthocyanin pigments and leaf flavonoids in the family Araceae. **Phytochemistry**. v.20, p.217-234, 1981. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(81\)85096-0](https://doi.org/10.1016/0031-9422(81)85096-0)

XU, M.; GALHANO, R.; WIEMANN, P.; BUENO, E.; TIERNAN, M.; WU, W.; CHUNG, I.; GERSHENZON, J.; TUDZYNSKI, B.; SESMA, A.; PETERS, R.J. Genetic evidence for natural product-mediated plant–plant allelopathy in rice (*Oryza sativa*). **New Phytol**, v.193, p.570–575, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.04005.x>

YANG, Y.; LEE, H.; CLARK, J.M.; AHN, Y. Insecticidal activity of plant essential oils against *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae). **J Med Entomol**, v.41, p.699-704., 2004. <http://dx.doi.org/10.1603/0022-2585-41.4.699>.

YANG, N.; CHEN, X.; WU, G.; DING, F.; LIU, G.; DING, L. Characterization of phospholipase D from *Arabidopsis thaliana* Callus in response to ent-kaurene diterpenoid leukamenin E. **J Plant Growth Regul**, v.32, p.628–635, 2013. <http://doi.org/10.1007/s00344-013-9331-y>

YANG, N.; WANG, J.; LIU, C.; SONG, Y.; ZHANG, S.; ZI, J.; ZHAN, J.; MASILAMANI, M.; COX, A.; NOWAK-WEGRZYN, A.; SAMPSON, H.; LI, X. Berberine and limonin suppress IgE production by human B cells and peripheral blood mononuclear cells from food-allergic patients. **Ann Allergy Asthma Immunol**, v.113, Issue 5, p.556-564, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2014.07.021>

YENG, W.S.; JEAN, T.P.; KIAW, N.K.; OTHMAN, A.S.; BOON, L.H.; AHMAD, F.B.; BOYCE, P.C. Phylogeny of Asian *Homalomena* (Araceae) based on the ITS region combined with morphological and chemical data. **Syst Bot**, v.38, p.589–599, 2013. <https://doi.org/10.1600/036364413X670430>

YU, Z.; LIANG, Y.; XIAO, H.; SHAN, Y.; DONG, B.; HUANG, R.; FU, Y.; ZHAO, Z.; LIU, Z.; ZHAO, Q.; WANG, S.; CHEN, J.; MAO, B.; CONG, Y. Melissoidesin G, a diterpenoid purified from *Isodon melissoides*, induces leukemic-cell apoptosis through induction of redox imbalance and exhibits synergy with other anticancer agentes. **Int J Cancer**, v.121, p.2084–2094, 2007. <https://doi.org/10.1002/ijc.22945>.

YUNES, R.A.; CECHINEL FILHO, V. In: YUNES, R.A.; CECHINEL FILHO, V. **Química de Produtos Naturais: novos fármacos e a moderna farmacognosia**. 5 Ed. Itajaí, SC: Univali, 2016.

ZHAO, X.; ZHENG, G.; NIU, X.; LI, W.; WANG, F.; LI, S. Terpenes from *Eupatorium adenophorum* and Their Allelopathic Effects on *Arabidopsis* Seeds Germination. **J. Agric Food Chem**, v.57, p.478–482, 2009. <https://doi.org/10.1021/jf803023x>

ZHOU, K.; PETERS, R.J. Electrostatic effects on (di)terpene synthase product outcome. **Chem Commun**, v.47, p.4074–4080, 2011. <https://doi.org/10.1039/C0CC02960B>.

ZHU, Y., LU, J., WANG, J., CHEN, F., LENG, F., LI, H. Regulation of thermogenesis in plants: the interaction of alternative oxidase and plant uncoupling mitochondrial protein. **J integr plant biol**, v.53, n.1, p.7-13, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2010.01004.x>

ANEXO 1



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE
INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS

**AUTORIZAÇÃO DAS ATIVIDADES DE ACESSO AO PATRIMÔNIO
GENÉTICO REALIZADA DE ACORDO COM A RESOLUÇÃO CGEN Nº35,
DE 27 DE ABRIL DE 2011
Nº 03/2014**

O INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS, credenciado pelo Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN/MMA), por meio da Deliberação CGEN nº 40, de 24 de setembro de 2003, para autorizar instituição nacional, pública ou privada, que exerça atividade de pesquisa e desenvolvimento nas áreas biológicas e afins, a acessar amostras de componente do patrimônio genético para fins de pesquisa científica sem potencial de uso econômico, **autoriza** com amparo na Resolução CGEN nº 35, de 27 de abril de 2011, que dispõe sobre regularização de atividades de acesso ao patrimônio genético e/ou ao conhecimento tradicional associado e sua exploração econômica realizadas em desacordo com a Medida Provisória no 2.186-16, de 23 de agosto de 2001 e demais normas, **as atividades de acesso ao patrimônio genético desenvolvidas pela:**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, CNPJ/MF nº. 75.095.679/0001-49, situada na Rua XV de Novembro, 1299, Curitiba-PR, CEP: 80060-000, e representada na pessoa do Reitor Zaki Akel Sobrinho, RG nº. 1.439.536-9 SSP/PR, CPF nº. 359.063.759-53, no âmbito das atividades do projeto de pesquisa "*Estudo Químico e Biológico das Espécies Vegetais*".

Objetivo da Autorização: Avaliar sob aspecto morfoanatômico, químico e biológico das espécies acessadas constantes do projeto de pesquisa.

Período das atividades: 2000 a 2019.

Validade da Autorização: Cinco anos, contados da assinatura. Em razão da continuidade do projeto de pesquisa, a instituição detentora desta autorização deverá enviar ao Ibama, a partir da emissão da licença, relatório anual sobre a execução das atividades de pesquisa, nos termos do Decreto nº 4.946/2003 e Resolução CGEN nº 41/2013. Endereço para envio do relatório: IBAMA/DBFLO, SCEN L4 Norte, Bloco B, Brasília-DF, CEP: 70818-900.

Esta autorização das atividades de acesso está vinculada às informações e termos assinados pelo requerente, constantes do processo nº 02001.001165/2013-47.


Volney Zanardi Junior
Presidente

Brasília, 17 de março de 2014.

ANEXO 2



Ministério do Meio Ambiente - MMA

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio

Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Número: 44970-1	Data da Emissão: 11/07/2014 13:44
-----------------	-----------------------------------

Dados do titular

Nome: Juliane Nadal Dias Swiech	CPF: 783.134.149-87
---------------------------------	---------------------

**Comprovante de registro para coleta de material botânico, fúngico e
microbiológico**

SISBIO

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	A autorização não eximirá o pesquisador da necessidade de obter outras anuências, como: I) do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador quando as atividades forem realizadas em área de domínio privado ou dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso; II) da comunidade indígena envolvida, ouvido o órgão indigenista oficial, quando as atividades de pesquisa forem executadas em terra indígena; III) do Conselho de Defesa Nacional, quando as atividades de pesquisa forem executadas em área indispensável à segurança nacional; IV) da autoridade marítima, quando as atividades de pesquisa forem executadas em águas jurisdicionais brasileiras; V) do Departamento Nacional da Produção Mineral, quando a pesquisa visar a exploração de depósitos fossilíferos ou a extração de espécimes fósseis; VI) do órgão gestor da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, dentre outras.
3	O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	É necessário a obtenção de anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como de consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade
5	Este documento não abrange a coleta de vegetais hidróbios, tendo em vista que o Decreto-Lei nº 221/1967 e o Art. 36 da Lei nº 9.605/1998 estabelecem a necessidade de obtenção de autorização para coleta de vegetais hidróbios para fins científicos..
6	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
7	Este documento não é válido para: a) coleta ou transporte de espécies que constem nas listas oficiais de espécies ameaçadas de extinção; b) recebimento ou envio de material biológico ao exterior; e c) realização de pesquisa em unidade de conservação federal ou em caverna.
8	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .

Táxons autorizados

#	Nível taxonômico	Táxon(s)
1	GÊNERO	<i>Philodendron</i>

nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio do **SISBIO**

Este documento (Comprovante de registro para coleta de material botânico, fúngico e microbiológico) foi expedido com base na Instrução Normativa da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 94234391

